



Smart seed

Fördröjd groningen hos raps

- försök med frö-coating samt litteraturgenomgång om frögroning, coating och praktisk tillämpning i reläodling



Camilla Persson

Handledare: Dr Lars Andersson
Examensarbete, 30 hp, D-nivå

**Institutionen för växtproduktionsekologi
Uppsala 2009
Sveriges lantbruksuniversitet**

Förord

Detta examensarbete har initierats av Lantmännen Lantbruk där idén var att skapa en vax-produkt som skall appliceras på rapsfrön för att förhindra groningen i tre månader efter sådd. Därefter ska fröet vara livskraftigt och kunna gro.

Jag vill tacka de personer som har gjort detta examensarbete möjligt och hjälpt mig på vägen till ett färdigt arbete.

Pär-Johan Lööf på Lantmännen Lantbruk är initiativtagare till projektet. Jag vill tacka honom för grundidén och de nya vinklingar och inspiration som han gav under arbetets gång.

Lars Andersson, min handledare på SLU är fenomenal på att ge bra kritik, avgränsa exjobbet och vägleda mig i rätt riktning. Dessutom har han korrigerat mitt arbete och hjälpt mig med den laborativa delen.

Jag vill också tacka Margareta Hökeberg MASE laboratorerna AB, Martin Svensson Lantmännen och Jonas Gustavsson YKI för deras synpunkter och hjälp vid framtagandet av grundvax.

Abstract

Oilseed rape constitutes a good break crop within a cereal dominated cropping system. The normal sowing time for winter rape in Sweden is August. It's a time in the cropping year characterized by a heavy work load, such as harvest and soil management. In addition, it is often a period with large precipitation. Thus, it is sometimes problematic for the farmer to do the sowing of winter rape at the optimal time. A relay cropping system with spring cereal and winter rape might be of great benefit for the farmer and the environment. This thesis is based on the idea of sowing a spring cereal crop and winter rape at the same time in the spring. The spring cereal will grow as usually, while the rape seeds are coated with a material, which delays germination. After three months, the rape seed will germinate and thus, be in the seedling stage when it's time to harvest the spring cereal. With this system the rape seed will always be seeded in right time and little additional work is needed in an already stressful period of the cropping year.

In this thesis different types of wax were tested as a way to prevent germination of rape seeds. The waxes included an acid, base or a neutral phase. The function of the wax was to prevent water, which is a primary factor for germination, to reach the seed. The base or acid phase was hypothesised to break down the wax slowly and subsequently enable the seed to take up water and germinate.

The results from the experiments showed that it is difficult to find a chemical, which can meet the requirements of delayed germination with a built-in time factor. The acid fraction was shown to harm the seed while breaking down the wax. The base fraction, on the other hand, did no damage the seed at a low concentration but the wax was not sufficiently degraded. The seeds were shown to survive in the waxy layer for one month. However, after three months covered by wax the seeds were dead. The wax layer had too little permeability and the seeds were probably killed by carbon dioxide poisoning and/or lack of oxygen. Earth living organisms can also be a problem as they were the probable cause for the breakdown of the wax in the experiments presented here.

Key word: delayed germination, seed coating, relay cropping system

Nyckelord: fördröjd groning, fröbehandling, fröcoating, reläodling

Omslagsbild: Rapsplanta som precis befriats från fröskalet utvecklingsstadium 7 enligt decimalskalan. Baksidan: rapsfält i full blom.

Fotograf: Camilla Persson

Innehållsförteckning	
ABSTRACT	4
INNEHÅLLSFÖRTECKNING	5
INTRODUKTION	6
Syfte	6
Mål	6
FRÖBIOLOGI	7
Groning	7
Groningsvila	8
Nitrathaltens påverkan på groningsvilan	10
Extrema pH-värdens påverkan på groning	10
Gasutbyte i ett vilande frö	11
RELÄODLINGSSYSTEM MED RAPS	12
Samodlingssystem	12
Reläodlingssystem	13
Höstraps som jordbruksgröda	13
Fördelarna med höstraps i ett reläodlingssystem	14
Tekniker för fördröjd groning som finns idag	16
VAX SOM GRONINGSHÄMMARE FÖR HÖSTRAPS	18
Definitionen av vax	18
Permeabilitet i vaxer	18
Vax i jordbruksprodukter	19
Studier där vax har använts som hämmare eller coating på biologiska produkter	19
Appliceringsteknik	20
Vaxcoating av frö	21
Försöksstrukturen	21
MATERIAL OCH METODER	22
Frömaterial	22
Vaxmaterial	22
Försök 1. Toxicitetsförsök	23
Försök 2. Hämningsförsök	23
Försök 3. Nedbrytningsförsök	24
Statistik	24
RESULTAT	25
Försök 1. Toxicitetsförsök	25
Försök 2. Hämningsförsök	26
Försök 3. Nedbrytningsförsök	28
DISKUSSION	29
REFERENSER:	31
BILAGA	34

Introduktion

Förbehandling av utsäde kan i många fall vara en kostnadseffektiv och miljövänlig metod för att förbättra grödans uppkomst och etablering. Framgångsrika exempel är till exempel utsädesbehandlingarna Cedomon, Cerall och Thermoseed som tagits fram av Lantmännen i samarbete med forskare på institution för lantbruksteknik och institutionen för växtpatologi och biologisk bekämpning, SLU. Lantmännen lantbruk har ett underföretag som heter Seedtreatment. I detta ingår MASE-laboratorierna, Bioagri och Seedgard, (Hökeberg 2008). Preparaten Cerall och Cedomon är biologiska betningsmedel baserade på bakterien *Pseudomonas chlororaphis*. De ger ett effektivt skydd mot en rad svampsjukdomar i havre, korn och vete, (Bioagri 2008) Thermoseed är en värmebehandling som steriliserar utsädet med hjälp av vattenånga vilket minskar risken för utsädesburna sjukdomar, (Bioagri 2008).

Detta examensarbete har initierats av Lantmännen lantbruks avdelning Seedtreatment där Ytkemiska institutet (YKI) är medaktör. Examensarbetet utgör ett steg i ett långsiktigt projekt som syftar till att utveckla metoder att styra grödans uppkomsttidpunkt. Syftet är att skapa en produkt som fördröjer groningen. Det skulle möjliggöra en samtida sådd av två grödor, varav den första gror direkt efter sådd och den andra gror precis innan eller efter att den första grödan har skördats.

Syfte

Syftet med studien är att ta fram ett vax som fungerar som groningshämmare vilket skall möjliggöra ett reläodlingssystem med höstraps och spannmål där båda grödorna sås samtidigt på våren .

Mål

Målet med studien är att rapsfröna skall gro fyra månader efter sådd när kornet är skördemoget. Vaxet som hindrar fröet från att ta upp vatten skall brytas ned efter fyra månader. Då har fröet möjlighet att ta upp vatten och kan gro. Nedbrytningshastigheten för vaxet får inte påverkas av temperatur, markfuktighet, marklevande djur, mikrober, markstruktur och marktextur. Istället skall en kemisk reaktion ske i vaxet som beror endast på en tidsfaktor.

Vaxet får inte ge toxiska skador på fröet som påverkar grobarheten, tillväxten och därmed slutligen skörden.

Fröbiologi

Det normala för ett fröutsäde är att det skall gro genast efter sådd. I det här arbetet var syftet att låta fröet vara i groningsvila i marken i fyra månader för att sedan gro. Det är därför viktigt att känna till processerna som styr groning och groningsvila samt vilka andra faktorer som kan spela roll.

Groning

Tre grundläggande faktorer måste vara uppfyllda för att ett frö skall kunna gro. Dessa är: tillräcklig tillgång på vatten och syre samt rätt temperatur. När ett torrt levnadsdugligt frö börjar ta upp vatten startar en mängd processer inuti fröet. Den totala vattenmängden som går åt vid groningen är som mest två till tre gånger fröets torrsubstansvikt (*Bewly & Black 1994*) Höstraps har en tusenkornvikt på 5,5 g och varje frö behöver som mest 16,5 µg vatten för att gro. Det stora vattenupptaget börjar först när grodden har penetrerat fröskalet.

Vattenpotentialen mellan fröet och jorden skapar en drivkraft för vattenupptag. Men det är fröets permeabilitet som bestämmer hur mycket vatten som verkligen tar sig in genom fröskalet. Genomsläppligheten bestäms av fröets morfologi, struktur, sammansättning, vattenhalt och temperatur. Vattenpotentialen som styr fröets vattenupptag beskrivs med formeln:

$$\Psi_{\text{frö}} = \Psi_{\pi} + \Psi_c + \Psi_p$$

Vattenpotentialen styrs alltså av tre olika faktorer där Ψ_{π} är den osmotiska potentialen som beror på koncentrationerna av olika lösningar inne i fröets celler. Ψ_c utgörs av fröets permeabilitet, vilken styr genomsläppligheten av vatten. Cellväggar, stärkelse och protein kan hindra eller binda in vatten. Ψ_p är tryckpotentialen som skapas av det tryck som omgivande vatten utgör på cellväggarna. Jorden har sin egen vattenpotential Ψ_{soil} och det är skillnaden mellan Ψ_{soil} och $\Psi_{\text{frö}}$ som möjliggör transport av vatten till fröet (*Bewly & Black 1994*).

Fröets form och jordtexturen påverkar fröets vattenupptag. Ju större kontaktyta desto snabbare kan fröet absorbera den mängd vatten som behövs till groningen. Små frön, frön med mjukt skal och de frön som producerar ett klistrigt sekret har en stor kontaktyta med jorden i förhållande till sin vikt och tar därför upp vatten mer effektivt än större frön. Jordar med grov textur, exempelvis sand, har sämre förmåga att leverera vatten till fröna jämfört med fintexturjordar med ler. Om vattenupptaget sker för långsamt försämras groningen medan ett för snabbt vattenupptag leder till skador i fröet (*Bewly & Black 1994*).

Ett lager vax utanpå fröet påverkar Ψ_c – potentialen. Genom att förhindra vattenupptag till fröet förhindras också groningsprocessen. Den metod som testades i det här presenterade försöket bygger på att rapsfröet ytbehandlas med ett vattentätt lager vax som förblir intakt i fyra månader. Därefter ska vaxcoatingen spricka upp och fröet frigöras så att det kan ta upp vatten och gro.

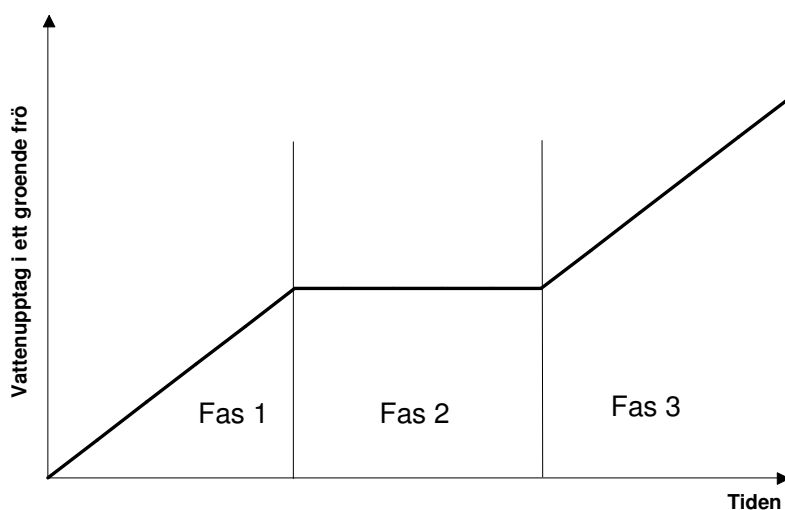
Markpackning kan skapa groningssvårigheter för fröet då vattentransporterna av främst kapillärt flöde och ånga är sämre i kompakta jordar. Det direkta mekaniska trycket mot fröet hindrar fröet från att svälla vilket leder till lägre vattenupptag och sämre groning (*Bewly & Black 1994*).

Rapsfrö ska ha en vattenhalt under 9% för att vara lagringdugligt. Ökar oljehalten i fröet minskar den delen där vattnet finns. Vid en högre oljehalt måste rapsen därför torkas ännu mer (*Svensk frötidning 6/08*). Vid den låga vattenhalten är respirationen extremt låg jämfört med groende frö. Mätningar av respirationen är svåra att göra eftersom det finns en mikroflora som respirerar betydligt mer.

Vid obegränsad mängd vatten gror ett frö i tre steg (Figur 1). I första steget regleras vattenupptaget främst av Ψ_c . När lagringsdugliga frön får tillgång till vatten frigörs först gas från fröet innan vattnet släpps in till cellerna. Den höjda vattenhalten aktiverar mitokondriska enzymer som används i citronsyracykeln och i elektrontransportkedjan vilket är processer som kräver syre. Syrebehovet ökar

därför linjärt med mängden celler som har fått tillgång till vatten.

I steg två även kallad lagfasen, har jämvikt uppnåtts i vattenpotentialen och fröet slutar att ta upp vatten. Alla redan existerande enzym är nu aktiverade och det sker många metaboliska processer som förberedelse för nästa steg när frövilan bryts. Syreupptaget stabiliseras eller ökar mindre drastiskt. Utvecklingen av mitokondrier tar längre tid än vid uppstarten av glykolysen. Det kan vara en av anledningarna till det låga syrebehovet under detta steg. Frögroningens första två steg passeras när fröet fortfarande är i groningsvila. Fröet behöver inte vara helt livsdugligt utan vattenupptag och aktivering av vissa processer kan ske i ett frö som inte klarar av det tredje steget utan dör. När steg tre inträffar bryts groningsvilan definitivt. Fröet börjar ta upp vatten igen för att rotanlaget skall kunna tränga igenom fröskalet. Detta är det avslutande momentet i groningen (*Bewly & Black 1994*). Syreupptagets steg tre infaller när celldelningen i rotanlaget kommer igång och det bildas nya mitokondrier både i rotanlagets tillväxtpunkt och i lagringsvävnaden inne i fröet.



Figur 1. De tre faserna fröet går igenom när det gror beroende på vattenupptaget. När ett frö har kommit in i fas 3 kan det inte längre gå tillbaka till groningsvila utan måste fullfölja groningen (Bewly & Black 1994)

När ett frö börjar ta upp vatten läcker lösningar med socker, organiska syror, joner, aminosyror och protein ut i jorden. Detta kan öka tillväxten av svampar och bakterier vilket försämrar överlevnaden för fröet. Om fröskalet är skadat läcker fröna ännu mer. Baljväxter har utvecklat en metod där de lagar sprickor i fröskalet med stärkelse och protein. Vissa fröer, exempelvis soja, kan också läcka proteinashämmare och lektin. Dessa skapar ett skydd mot mikrober och insektsangrepp. Frön med hög vattenhalt från början eller frön som har vattenbehandlats innan sådd läcker inte eftersom de redan har tagit upp tillräcklig mängd med vatten för att genomgå groningsprocessen (*Bewly & Black 1994*).

Groningsvila

Syftet med ett frö är att det skall gro och föra växtens gener vidare till nästa generation. Syftet med förhindrad groning i form av groningsvila är att låta fröet gro under de mest gynnsamma förhållandena, vilket har gynnats av evolutionen. Anledningen till att ett frö inte gror kan bero på att grundläggande yttre faktorer som värme, syre eller vatten saknas. Fröet är då inte groningsvilligt och gror först när de grundläggande faktorerna är uppfyllda.

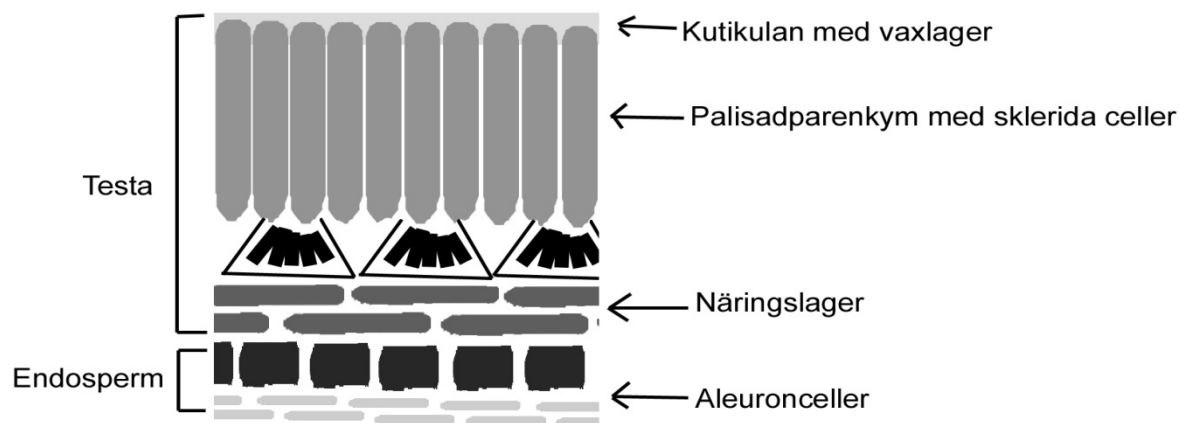
En del frön behöver förutom de grundläggande faktorerna även en kort period av

ljus, kyla eller extrem värme för att gro (*Baskin & Baskin 2001*). Groningsvila är det tillstånd som ett frö befinner sig i när det inte gror trots att de grundläggande faktorerna är uppfyllda. Groningsvila finns i alla högre växter i alla klimatzoner. Fröna skall inte gro direkt på moderplantan när de mognar och hindras då av en primär groningsvila. Är vädret tillräckligt fuktigt händer det dock att vete gror direkt i axet vilket sätter igång kemiska processer i fröet. Vetekärnor som har grott är inte längre användbara som livsmedel. Den primära groningsvilan kan finnas kvar i fröet efter att det har lämnat moderplantan (*Bewly & Black 1994*). Fröet kan behöva en period av kyla innan den primära groningsvilan bryts. Är det därefter inga bra förutsättningar för att gro kan det induceras en sekundär groningsvila i fröet. Det kan t.ex. förhindra att vissa arter som behöver en hel växtsäsong för att gro, tillväxa och sätta frön, från att gror för sent på säsongen. Istället ligger dessa frön kvar i marken och väntar på nästa växtsäsong.

Den ryska biologen Marianna G. Nikolaeva presenterade en teori för karaktärisering av groningsvila. Denna har sedan vidareutvecklats till att omfatta fem olika typer (*se t.ex. Baskin & Baskin 2001*). Fysiologisk groningsvila (PD) är en fysiologisk process i embryot som förhindrar rotanlaget från att bryta sig ur fröskalet. PD som är den största klassen kan vara djup och mindre djup. Det krävs då olika mycket stimulering från omgivningen för att kunna bryta groningsvilan. Morfologisk groningsvila (MD) uppstår i frön som är i ett grundläggande förstasteg där embryot inte är färdigutvecklat. En del arter har en färdigutvecklad embryoaxel och hjärtblad som måste tillväxa innan groning är möjlig, medan det räcker att cellerna är differentierade i andra arter. Det är en morfologisk egenskap hos embryot som förhindrar groningen, därav namnet. Morfofysiologisk groningsvila (MPD) är en kombination av fysiologisk och morfologisk groningsvila. Embryot måste tillväxa och den fysiologiska groningsvilan måste brytas innan fröet kan börja gro.

Ett fröskal kan påverka grobarheten genom vattenupptaget, gasutbytet och koncentrationen av inhibitorer vilket hindra fröet från att gro rent mekaniskt, (*Bewly & Black 1994*). Fysisk groningsvila (PY) orsakas oftast av att fröskalet inte släpper igenom vatten, (*Baskin & Baskin 2001*). Exempel på arter med PY är brandnäva *Geranium lanuginosum* och svedjenäva *Geranium bohemicum*, vilka kräver en temperatur i marken mellan 50-100 ° C för att börja ta upp vatten och gro (*Karlsson 2007*). De är bland de första växterna som täcker marken efter en skogsbrand. Suberin, vilket är ett korkliknande ämne i vävnaden, vaxet i kutikulan och palissadlagret hindrar vattnet från att nå fröanlaget (Figur 2) (*Bewly & Black 1994*). I fröskalet finns ett eller flera palissadlager där det yttersta inte släpper igenom vatten (*Baskin & Baskin 2001*) Det vattentäta palissadlagret består av sklerida celler som har en tjock andra cellvägg med lignin, kutin, pektin, kinon, suberin och vax. Sklerida celler skapar en träaktig vävnad med lignin och cellulosa, ofta utan protoplasma.

Det måste bildas en öppning i det vattentäta lagret för att fröet skall kunna gro (*Baskin & Baskin 2001*). Fröna i familjerna Cistaceae och Malvaceae gror först när en plugg som sitter nära endospermet har splittrats. Andra arter har plugg- och lockformade strukturer som måste avlägsnas för att fröet skall kunna gro. Det finns idag bara spekulationer om vad som utlöser brytningen av den fysiska groningsvilan. Hos vissa arter ger kombinationen av fysisk och fysiologisk groningsvila ett dubbelt skydd mot groning. Båda typerna av groningsvila måste brytas innan fröet kan gro. De behöver dock inte brytas samtidigt och vilken som bryts först varierar mellan arterna. Fröet kan också skyddas mekaniskt av ett vedartat fröskal eller fruktskal.



Figur 2. Genomskärning av fröskalet med vaxlagret ytterst

Fröet har oftast även en fysiologisk groningsvila. När denna försvagats tillräckligt klarar rotanlaget av att bryta sig igenom fröskalet. I en del frön öppnar sig fröskalet när det är dags att gro vilket liknar den fysiska groningsvilan (Baskin & Baskin 2001).

Frövila kan bero på kemiska hämmare i perikarpen (fruktskalet). Perikarpen måste tas bort eller hämmarna läcka ut för att fröet skall kunna gro. Hämmare har även hittats inuti fröets olika delar som embryo, endosperm och fröskal. Olika arters inhibitorer har lite annorlunda strukturer och det är därför inte alltid möjligt att isolera en inhibitor från en art för att förhindra groningen på en annan art. Hämmare återfinns i de flesta frön utom de som är dvärgväxta eller har någon annan tillväxtdeformation. ABA (abscissinsyra) är ett av de hormon som visat sig förhindra groningen, (Baskin & Baskin 2001).

Nitrathaltens påverkan på groningsvilan

Nitrathalten i moderplantan har betydelse för groningsvilligheten i vissa arter ex backtrav (*Arabidopsis thaliana*) som behöver mindre ljus för att gro om nitrathalten är hög (Finch-Savage & Leubner-Metzger). Nitrat är en viktig kvävekälla för växterna. Förhållandet mellan antal frön som går in i groningsvila efter mognad och nitrathalten i kärnan på frön av *A. thaliana* har studerats. Gynnas kväueupptaget i moderväxten höjs kväuehalten i fröna vilket leder till att färre frön hamnar i groningsvila. Nitrat som tillsätts exogent till fröet eller som transporteras från moderväxten fungerar som en signalmolekyl till groningsprocessen. Det behövs fler analyser för att ta reda på om det är nitraten som direkt stimulerar groningen eller om nitraten sätter igång metaboliska förändringar inuti fröet. Det är möjligt att nitratsignalen är involverad i produktionen av ABA (abscissinsyra) och GA (gibberelin syra). Även andra kväueföreningar som kväueoxid och nitrit stimulerar groningen av *A. thaliana*. Högre kväueackumulering leder till lägre behov av GA i fröet för att det skall gro (Alboresi 2005 et al 2005).

Extrema pH-värdens påverkan på groningen

De flesta växter klarar av ett pH-värde mellan 4-8 i marken. Ligger pH-värdet över eller under dessa värden ger det toxiska effekter på växten (Redmann & Abouguendia 1979). En del frön grov inom ett smalt pH område medan andra klarar av att gro med god uppkomst inom ett brett område. Det har gjorts groningsförsök med extrema pH-värden på några ekonomiskt viktiga grödor, (Baskin & Baskin 2001) av vilka vitgran (*Picea glauca*) och contortatall (*Pinus contorta*) är några. Beroende på vilken buffert som användes varierade grobarheten. Tallen grodde bra i ett surt pH-värde på 2,6 medan granen hade det betydligt tuffare och bara grodde om buffertlösningen innehöll citronsyra-kalium. Både tallen och granen grodde mycket dåligt när pH-värdet var närmare 9. Tillväxten för både gran och tall var betydligt sämre i både sur och basisk jord jämfört med kontrollen med pH-värde 6,6 (Redmann & Abouguendia 1979.)

Gasutbyte i ett vilande frö

Frön i vila kräver mycket små mängder syre för att överleva. Gasutbytet är nära noll i frön med vedartat hårt skal vilket kan vara en av de faktorer som hindrar groning. Vid groningen ökar behovet av främst syre eftersom stärkelsen bryts ned för att användas till uppbyggnad och energi. De många lager av vävnad som omger fröet kan ha effekt på gasutbytet genom att syre stängs ute och koldioxid stängs inne. Detta leder till dålig respiration. Teorin att det dåliga gasutbytet påverkar groningsvilan stöds av två försök presenterade i (*Bewly & Black 1994*). I det första försöket punkterades frön nära embryoaxeln vilket stimulerade groning hos lönn, korn och ris. I det andra försöket höjdes syrehalten i den omgivande atmosfären, vilket tydligt ökade groningsvilligheten hos vete och *Xanthium pennsylvanicum*. Havre, björk, korn ris och honungsfacelia grodde måttligt medan lönn inte grodde alls vid den höga syrehalten (*Bewly & Black 1994*).

I början på 1900-talet gjordes försök som visar att frön behöver tillgång till syre för att gro. Petriskålar med olika syrehalter visade tydligt att en högre syrehalt ledde till högre grobarhet. För att öka grobarheten i frön med hårt skal byggdes en maskin där fröna blåstes mot nålar för att penetrera fröskalet (*Rose 1915*). Grobarheten ökade men om det var den ökade syretillgången eller vattentillgången som fick fröna att gro gick inte att avgöra.

Det är inte bevisat att fröet förbrukar syre under groningsvilan. Däremot finns det groningsinhibitorer som påverkas av syremängden i olika arter. Dessa hindrar fröet från att gro. Vid gasutbyte diffunderar inhibitorerna ut genom fröskalet och fröet kan gro. Det har visats att groningsinhibitorer i åkersenap bildas när syrehalten i fröet är låg. Det tyder på att fröskalet i åkersenap har två funktioner: dels att förhindra gasutbyte och dels att öka koncentrationen av de inhibitorer som förhindrar groning (*Bewly & Black 1994*). *Xanthium*-frön producerar etylen som kan bryta groningsvilan. För att kunna producera etylen krävs en hög syrehalt och ett fröskal som möjliggör gasutbyte (*Bewly & Black 1994*).

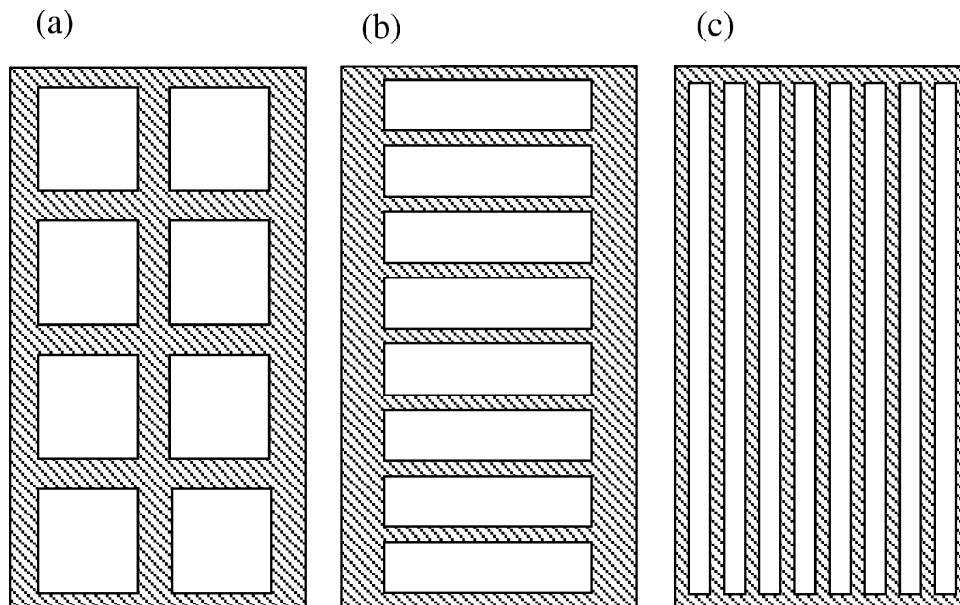
Reläodlingssystem med raps

Samodlingssystem

Samodlingsystem, även kallat intercropping är odlingssystem med två eller flera grödor odlade på samma fält i olika rader (*Vandermeer 1989*) (Figur 3). Grödorna kan ha olika funktion beroende på syftet med samodlingssystemet. I ekologisk odling är syftet ofta att skydda den ena grödan från insekter och patogener. Det systemet kallas för fångstodling (trapcropping) och praktiseras i dag i liten skala i Norden främst i vitkålsodlingar och raps där grödorna behöver skyddas från rapsbaggen (*Shelton & Badenes-Perez 2006*). Den första grödan kan också fungera som en grüngödslingsgröda som förser den andra grödan med näringsämnen, främst kväve. Syftet med samodling kan också vara att få ut två skördar från samma fält. Både såtidpunkt och skördetidpunkt kan variera mellan de båda grödorna.

Fördelarna med ett samodlingssystem är:

- Längre grödor skyddar kortare grödor från för mycket solinstrålning och vattenavdunstning (*Innis 1997*)
- Mindre läckage av växtnäring om skördeperioderna för de båda grödorna inte infaller samtidigt
- Olika grödor har olika behov av näringsämnen. Istället för att alla plantorna konkurrerar om samma näringsämnen, vilket ofta är en tillväxthämmande faktor, kan näringsämnena i marken utnyttjas mer effektivt (*Hauggaard-Nielsen & Jensen 2001*)
- Det är möjligt att odla mer biomassa per ytenhet jämfört med ett konventionellt system med en gröda per fält (*Vandermeer 1989*).
- Insekter har svårare att sprida sig i fältet eftersom den icke intressanta grödan i systemet fungerar som en barriär som insekterna har svårt att ta sig igenom
- Patogener har svårare att sprida sig i fältet vilket också beror på de barriärer som den andra grödan utgör.
- Naturliga predatorer gynnas i ett system som kräver mindre kemisk behandling (*Kahn et al 1997*)
- Patogener och insekter kan inte utveckla resistens mot systemet
- Försök med vete och bönor har visat att samodling ger bättre ogräskontroll (*Bulsson et al 1996*)



Figur 3. Olika samodlingssystem. a och b är två system med en huvudgröda och en fångstgröda. Fångstgrödans uppgift är att dra till sig insekter och verka som en skyddande barriär mot patogener. c är ett system med två grödor där båda grödorna är värdefulla och ska skördas.

Det är viktigt att ta reda på vilka skadegörare som finns och att de inte har båda grödorna som värdväxter. Då kan skadan förvärras betydligt istället för att minska. Morfologiska och fysiologiska skillnader mellan grödor minskar konkurrensen om tillväxthämmande faktorer som solljus, vatten och näringsämnen. Bladen på grödorna är formade olika och tar därför upp solljuset olika effektivt, med en fördel för den gröda som har störst bladytta och vinklade blad. Rötternas utformning har betydelse för vattenupptaget. Mycket finrötter och djupa rötter ökar vattenupptagningsförmågan. De två olika grödorna kan ta upp vatten från olika djup i markprofilen och hushåller därför mer effektivt med det växttillgängliga vattnet (Haynes 1980).

Största nackdelen med ett samodlings-system är att det oftast är svårt att skörda maskinellt. Därför är systemet vanligast i utvecklingsländer där mycket arbete fortfarande görs för hand. Systemet praktiseras även i större skala i USA där lusern och bomull odlas tillsammans. Lusern skyddar bomullen från vissa insektsangrepp och har inget skördevärde (Shelton & Badenes-Perez 2006).

Reläodlingssystem

Reläodling är en undergrupp till samodlingssystem. Definitionen är att två eller flera grödor skall odlas tillsammans på samma fält under delar av livscykel. Det kan innebära att den andra grödan sås in i den första grödan när den har nått reproduktiv ålder men innan den skall skördas. På SLU har det gjorts försök med att så in höstvet i vårkorn när kornet fortfarande var i ett vegetativt utvecklingsstadium (Roslon 2003).

Höstraps som jordbruksgröda

Höstrapsfrön har valts till detta försök eftersom det är en gröda som skall gro tidigt på hösten och är därför lämplig i ett reläodlingssystem. De små sfäriska fröna är lättare att ybehandla jämfört med större och ojämna frön.

Raps *Brassica napus* är en oljegröda som går att odla i de tempererade zonerna med god skörd. I *Brassica*-släktet ingår också jordbruksgrödorna rybs *B. rapa*, sareptasenap *B. juncea* samt *B. carinata*. *Brassica*-arterna klarar av att tillväxa

under låga temperaturer. Det i kombination med att plantorna producerar många frön med god grobarhet har gjort *Brassica* till ett vinnande koncept. *B. carinata* odlas bara i Etiopien idag. Sareptasenap odlas i Kina, Indien och Kanada där slutprodukten blir brun senap, vilket skall skiljas från vitsenap *Sinapsis alba* av vars frön man gör gul senap.

Raps och rybs odlas i Sverige, där rapsen ger högst skörd medan rybsen klarar av angrepp från patogener och insekter bäst. De sfäriska rapsfröna innehåller över 40% olja (Kimber & McGregor 2005). Raps är en gröda som är på frammarsch. I dagsläget används raps till livsmedel, foder och energi (Svensk raps 2007). Rapspriserna under 2008 låg på över 4 kr/kg vilket gjorde rapsen till den mest lönsamma grödan på en del gårdar. År 2008 odlades 62 897 ha höstraps vilket är drygt 3 gånger så mycket som vid början av 2000-talet (Svensk raps 2008-11). Höstraps sås på hösten i augusti direkt efter skörden av förfrukten. Den optimala såtidpunkten för höstraps i Skåne är mellan den 15 och 20 augusti. I övriga landet infaller den tidigare ju längre norrut och inåt landet fälten befinner sig, (Svensk raps 2008-11) Svårigheten är att få en god etablering och en mängd olika tekniker används idag, allt ifrån konventionell sådd efter plöjning eller kultivering till att direktsådd och djupluckring.

Raps vill ha ett högt pH-värde i marken. Försök har visat att uppkalkning med en halv pH-enhet ger en merskörd på 200 kg/ ha (Mattsson 2008). Skördens storlek varierar mycket beroende på jordart, pH-värde, växtzon, vädret under säsongen, etableringen på hösten och övervintringen. En rapsskörd ligger därför mellan 2000-5000 kg/ha där 5000 är toppnotering för sommaren 2008 i Skåne.

Fördelarna med höstraps i ett reläodlingssystem

Vårkorn är en vanlig förfrukt till raps. Idén som ligger till grunden för det här examensarbetet är att vårkorn eller annan vårsådd gröda skall sås samtidigt med höstraps på våren i ett reläodlingssystem. Höstrapsen skall gro precis innan skörden av vårkornet och vara någon centimeter hög vid skörden. Groddplantorna klarar inte av att växa igenom för mycket halm från förra grödan (Blomquist 2006). Finhackas halmen måste plantorna var tillräckligt höga för att inte täckas helt vilket minskar tillgången på energi från solen. Plantorna kan också gro precis efter skörden och komma upp i stubben. Då är det en fördel om halmen är borttagen från fältet.

Minskat läckage av näringsämnen

Största läckaget av kväve sker i nitratform och kommer ursprungligen från mineraliserat organiskt material (Gustavsson 1995). Nitratjoner är negativt laddade och adsorberas därför inte av markpartiklarna som också är negativt laddade. Istället hamnar nitraten i marklösningen och kan därför förflyttas snabbt genom markprofilen och ut i vattendragen med dräneringsvattnet (Brady & Weil 1999). Läckaget från jordbruksmark varierar över året. När det finns någonting som växer på marken är läckaget nära noll eftersom växtligheten tar upp näringsämnena. På vintern är marken inte är tjälad, men det är för kallt för växterna att tillväxa eller marken är obevuxen sker största läckaget. Vid en marktemperatur på över noll grader sker det fortfarande en biologisk nedbrytning av döda växtdelar som mineraliseras till näringsämnen som levande växter kan ta upp (Henriksson & Christerson 1999). Organiskt kväve mineraliseras till ammonium vilket är växttillgängligt. Under aeroba förhållanden mineraliseras ammonium (NH_4^+) av autotrofa bakterier till nitrit (NO_2^-) och sedan nitrat (NO_3^-) där det senare också är växttillgängligt. Ammonium adsorberas av lerpartiklar och läcker därför inte med dräneringsvattnet. Både nitrit och nitrat läcker däremot med dräneringsvattnet om det inte finns några växter som tar upp ämnena. Vid anaeroba förhållanden som skapas av hårt packad jord eller våt mark sker istället en denitrifikation av nitratkvävet till koldioxid (CO_2), kvävgas (N_2) eller lustgas (N_2O) där koldioxid och lustgas är så kallade växthusgaser (Eriksson et al 2005). En stor del av kväveutlakningen på vintern i ett rapsfält beror på att blad fälls och plantor dör. Dessa bryts ned och kväve lakas ut (Sextensson 2006).

Det är en liten del av fosfor (P) i marken som är tillgängligt för växterna. pH-värdet måste ligga mellan 5,5 och 8,0, annars bildar fosfor svårslösliga föreningar med järn och aluminium. Växterna tar upp fosfor som är bundet i olika kalcium (Ca) föreningar. Fosfor läcker inte lika lätt som kväve. Mikroorganismerna bryter ned växtdelarna och mineraliserar fosfor till marklösningen. Fosfor kan sedan tas upp av växter, immobiliseras tillbaka till mikroorganismerna eller bindas in i lerpartiklar eller joner. Läckage till dräneringsvatten sker främst genom markerosion (*Eriksson et al 2005*)

När åkern är obeväxt binds en del näringsämnen in i mineralerna medan resten sköljs ut med dräneringsvattnet och hamnar i vattendragen där de inte är önskvärda i för stora koncentrationer. På hösten efter skörden finns det en mängd döda växtdelar i form av rötter, stubb och hackad halm. Sockerarterna i dessa bryts ned snabbt och ett läckage av näringsämnen uppstår i augusti som är den månaden på året med mest nederbörd. De unga rapsplantorna kan ta till vara på den markfukt som finns kvar vilket hindrar översta jordlagret från att torka ut. Rapsplantorna kommer också att utnyttja det kväve och fosfor som finns tillgängligt från mineraliseringen vilket ger ett mycket lågt läckage av näringsämnen ut i vattendragen. Raps är den gröda som kan ta upp mest kväve på hösten. Med dagens odlingssystem tar rapsen upp mellan 5-85 kg kväve per hektar (*Henriksson & Christerson 1999*). Eftersom rapsplantorna respirerar och använder en del av markvattnet blir markstrukturen torrare och risken för denitrifikation minskar.

Markstruktur

Många höstar är den rika nederbörden ett stort problem. Fälten är för blöta för att både skörda och bearbeta för sådd av höstraps. Markpackningsskador uppstår lätt vid blöta förhållanden då både trösken och såmaskinen är tunga maskiner som packar jorden. Genom att minska antalet överfarter på åkern minskas också markpackningen. All form av jorbearbetning förstör den markstruktur som har bildats under sommaren. Jordbearbetningen ökar också syrehalten i marken och rör ned växtdelar vilket leder till ökad mineralisering.

Växtrötterna påverkar markstrukturen genom vattenupptaget som ger sprickbildningar i marken. Rötterna penetrerar kompakt jord vilket leder till finare struktur med ett nätverk av porer i varierande storlek. Det organiska material som rötterna lämnar kvar stabiliserar porväggarna (*Heionen 1986*). Raps och rybs har en djup pålrot som luckrar jorden och efterlämnar en jord med bättre struktur. Det är en av anledningarna till att raps och rybs har ett bra förfruktsvärde. En god tillgång på dagmask visar på att markstrukturen är bra. Dagmaskar skapar även en bra markstruktur där de drar fram. Rötterna kan växa i maskgångarna och får på så sätt tillgång på vatten och näringsämnen utan någon större ansträngning. Maskgångarna används även till infiltration och luftväxling där de kan ha större betydelse än porerna i marken. Plogen missgynnar dagmasken och en plöjning mindre på hösten ger mer tillgång på dagmask (*Heionen 1986*).

I reläodlingssystemet sker ingen höstbearbetning före sådd och de naturliga sprickor i marken som skapats av rötter och marklevande djur finns kvar. De små sprickorna transporterar kapillärt vatten uppåt i profilen vid torka och de stora sprickorna är viktiga vid dräneringen av en för blöt jord.

Minskade skördeförluster från insekter och ogräs

En tidig etablering på hösten ger en fördel för rapsen gentemot ogräset. När rapsbladen täcker raderna skuggar de marken och ogräset får för lite solenergi för att kunna tillväxa. Insekter angriper i första hand redan skadade och utsatta plantor. Ett starkt och tätt bestånd angrips inte lika mycket och de totala skadorna på bladen blir därför mindre. När rapsplantorna bryts ned efter skörden bildas en biocid som minskar växtsjukdomen rotdödaren. Denna orsakas av svampen *Gaeumannomyces graminis* som angriper vete (*Sixtensson 2006*). Raps är därför en bra förfrukt till vete speciellt om det förekommit rotdödare tidigare på fältet, (*Sjöberg 2001*).

Minskade etableringskostnader

Det är svårt att komma ut i tid för att så rapsen om det är en regning höst. En sen

rapssådd leder till att plantorna är för klenta när temperaturen sjunker så mycket att de inte längre kan tillväxa. Vid invintringen är det önskvärt att plantorna följer den så kallade 8-8-8 regeln som innebär 8 cm pålrot, 8 mm rothalsdiameter och 8 blad. En samsådd redan i april tar bort minst en körning och ett arbetsmoment i en redan stressig period under växtodlingsåret. Lägghetskostnaderna sänks då rapsen faktiskt sås i tid varje år.

Alla typer av fältoperationer är dyra poster. Kostnaden för att så raps beror mycket på vilken etableringsmetod som används. Med reläodlingssystemet sparas minst en överkörning eftersom alla andra system kräver en överfart med såmaskinen på hösten. Utnyttjandet av mineraliserade växtnäringssämnen ökar och gödselgivan kan eventuellt sänkas.

Tekniker för fördröjd groning som finns idag

USA

LandecAg är ett teknikföretag som har specialiserats sig på temperaturaktiverande fröcoating. Coating är en sorts ytbehandling där ett tunt lager av ett ämne läggs utanpå ett annat material. Fröna coatas med en polymer som släpper igenom vatten när en viss temperatur har uppnåtts. Systemet fungerar bra där marktemperaturen inte varierar kraftigt utan värms sakta upp eller kyls ned beroende på årstid. Produkten heter Intellicoat® och används i tre olika grödor (*LandecAg 2009*).

Intellicoat® Early Plant® Corn används i Kanada och USA på majs där bönderna kan så majsen upp till fyra veckor innan fröna ska gro. Fördelen med att så tidigt och låta fröna gro senare är att alla fröna gror samtidigt även om det har tagit ett par veckor att så hela arealen. Istället för att ha några få dagar på sig att så får nu bonden fyra veckor och kan därför minska kostnaden för såmaskinen genom att så större areal. Majsen sås också i tid vilket är en fördel eftersom en sen sådd ger skördenedsättning (*LandecAg 2009*).

Intellicoat® Pollinator Plus® är en coating som används till hybridmajsproduktion. Hansorten coatas med Intellicoat vilket höjer kravet på antalet daggrader för groning med 50-100 enheter. Genom att blanda coatade frön med icke coatade frön förlängs blomningsperioden och honsorten kan pollineras under en längre period vilket leder till högre skörd (*LandecAg 2009*).

Intellicoat® Relay™ Crop Soybeans förenklar ett reläodlingssystem med vete och soyabönor. Höstvetet sås som vanligt i oktober och bönorna sås in på våren innan bestockningen av vetet. Coatingen fördröjer groningen på soyabönorna med 20-30 dagar. Intellicoatingen minskar skadorna på vetet eftersom det går att så in bönorna tidigare. Bönorna skördas några månader efter vetet på hösten. Systemet fungerar i Indiana, Illinois och Ohio i USA (*LandecAg 2009*).

Kanada

I Kanada sås vårrapsen i början på november precis innan tjälen gör marken obrukbar. Den kalla temperaturen stimulerar inte till groning utan fröna förblir i groningsvila tills marken värms upp på våren. Problemet är att så rapsen i rätt tid eftersom en för tidig sådd i oktober stimulerar fröna till att gro vilket leder till stora utvintringsförluster. Sent i oktober uppstår problem med tjälad eller blöt mark (*Clayton et al 2004*). Företaget GrowTec Inc har ett patent gällande polymercoating av utsäde. Syftet är att coatade frön skall sås i början av oktober men inte kunna gro förrän i början av november då kylan förhindrar groning fram till våren. Produkten Extender™ som de patenterade 2001 finns idag inte med bland GrowTec Inc:s sortiment.

Polymer seed coating (PSC) har testats i försök i Kanada. Flera olika sorter testades på tre olika platser under tre år med två olika sådatum. Resultatet visar att PSC frön ger högre nettoinkomster jämfört med icke behandlade frön om båda sås tidigt i början av oktober. Obehandlade frön ger högre nettoinkomster än PSC frön om båda sås i början på november. Generellt gav sent sådda testrutor bättre netto än tidigt sådda. Det system som genererade högst vinst var fortfarande obehandlade frön som såddes precis innan marken blev tjälad i november,

(Upahyay *et al* 2007). PSC-behandlade frön kan ge högre skörd, men eftersom tekniken är dyr ger det ingen effekt i nettoinkomsten.

Finland

I Finland är problemet med vårrybs och vårraps att såperioden är för kort på våren och att markerna ofta är för blöta för att kunna sås. Därför var produkterna GrowTec Extender™ och Poligen®WE3 intressanta eftersom de skulle ge fördröjd groning på rybs och raps. Idén var att så rybsen och rapsen tidigare på våren då det fortfarande var risk för nattfrost eller ännu tidigare i början på vintern då arbetsbelastningen på gårdarna var betydligt lägre. Produkterna testades under tre säsonger ute i fält på två olika platser i Finland. Fröna såddes med bredspridare som är den enda tillämpbara tekniken på sena höstar och tidiga vårar i Finland. GrowTec Extender™ är en vattenlöslig polymer där genomsläpplighets-egenskaperna ändras med temperaturen. Fröna coatades till 3% av frövikten. Poligen®WE3 är ett polyetylen vax som tillverkas av BASF. Fröna i försöket coatades till 3% ,4% ,5% och 7% av frövikten. Fröna i testrutorna grodde mycket dåligt. Bäst grodde rybsen som var coatad med GrowTec Extender™ där 55% av ytan gav hyfsad skörd första året. De två följande åren var resultatet mycket sämre. Anledningen beror dels på att fröna såddes i snön och inte hade direktkontakt med jorden. Jordarna som användes i försöket hade hög lerhalt vilket gör att översta lagret snabbt torkar ut på våren. Fröna som då hamnat på ytan kunde inte gro på grund av vattenbrist. Några frön såddes i marken på hösten. Dessa grodde inte alls på våren och fröna antogs ha hamnat i en sekundär groningsvila där orsakerna var vattenstress, för låg temperatur eller brist på syre. Fröna grodde inte heller de följande tre åren. Raps och rybsfrön kan överleva i fröbanken i upp till 10 år. Laborationsförsök visade att 50% av fröna grodde efter 11-14 dagar om de var coatade med 4 frövikten % med Poligen®WE3. Det tog 55-57 dagar och en ruggning för fröna att gro om de var behandlade med 6 frövikten %. När Poligen®WE3 coatades med ett tjockare lager än 4 frövikten % behövde ytan behandlas på något sätt för att fröna skulle gro. Antingen genom att ruggas eller penetreras med små nålar för att få vattnet att komma in till fröna. Frön som behandlades med GrowTec Extender™ grodde nästan samtidigt som kontrollen, vilket de skulle göra eftersom temperaturen var rätt för att gro. Alla fröna var fortfarande vid liv efter 57 dagar (Peltonen-Sainio *et al* 2006).

Sverige

Tidigare försök har gjorts där rapsfrön har ytbehandlats med olika polymerer och hormoner. Fröna gick in i groningsvila som var svår att bryta. Det krävdes att fröna som fått alla optimala fröutsättningar för att gro i tio veckor fick en tillsats av GA för att kunna gro. Det är lätt att behandla fröna med ett ämne som hindrar dem att gro. Svårigheten ligger i att det ämnet skall brytas ned eller på annat sätt tillåta groning efter en viss tid. I laboratoriemiljö går det att använda en så kallad *trigger* vilket i detta fall är ett hormon som stimulerar groning. I fält är det inte ekonomiskt försvarbart att behandla hela fältet på detta sätt för att fröna skall gro (Wigh 2008).

Stendahl (2005) har gjort försök där rapsfrön och vetekärnor coatats med cellulosalack och akrylplast för att fördröja groning. Vetekärnorna fick en grobarhet mellan 5-65% om de behandlats med akrylplast. Ju tjockare lager var desto sämre grobarhet. Det gick att fördröja groningen upp till 27 dagar beroende på coatingens tjocklek. Var coatingen ännu tjockare grodde inte fröet vilket tros bero på att coatingen var för stark för rotanlaget att trycka sig igenom eller för tätt så att fröet inte fick tillräcklig mängd syre för att kunna gro. Cellulosalacken gav ingen fördröjd groning på vetekärnorna. De coatade rapsfröna fick gro i olika temperaturer där den sammanlagda temperatursumman mättes. Om temperaturen var låg gav akrylplastcoatingen ingen effekt utan fröna grodde samtidigt. Var temperaturen högre än 14°C fanns det en skillnad mellan groningstidpunkten och coatingens tjocklek eftersom genomsläppligheten ökade med ökad temperatur.

Vax som groningshämmare för höstraps

I det här försöket testades olika vaxemulsioner som är tänkta att fungera som ett groningshämmande lager på höstrapsutsäde. Vaxet skall hindra vatten från att tränga in till fröet utan att störa fröets respiration.

Definitionen av vax

Coating är en sorts ytbehandling där ett tunt lager av ett ämne läggs utanpå ett annat material. Vaxcoating är när en tunn film av heltäckande vax läggs utanpå ett material, i detta fall rapsfrön. Det finns idag en mängd olika kommersiella vaxer med nästan lika många olika användningsområden där fuktskydd och glänsande yta är det vanligaste. Vax används även i livsmedelindustrin för skydd av livsmedel, till exempel frukt (*Hardenburg 1967*). Vaxet hindrar vatten från att avdunsta och produkten håller sig därför färsk längre.

Vax är en samlingsbeteckning för olika ämnen som består av lipider där en alkohol och en fettsyra bildar en ester (*Hart et al 1999*). Lipider är en beståndsdel i växter och djur och karaktäriseras av sina löslighetsegenskaper. De är lösliga i icke-polära organiska lösningar men inte i vatten. Lipider kan ha olika kemiska strukturer av vilka estrar är en (*Hart et al 1999*). Det finns olika definitioner på vilka egenskaper ett ämne skall besitta för att få kallas ett vax. Clariant är ett kemiföretag som har ett stort utbud av olika vaxer. Deras definitioner på ett vax, förutom rätt kemisk sammansättning, är:

- knådbart vid 20 °C
- smältpunkt över 40 °C
- grov till fin struktur
- halvgenomskinligt till icke genomskinligt
- polerbar under lätt tryck

Vax kan delas in i två grupper av vilka naturligt vax utgör den första gruppen vilken består av vax som bildas av växter eller djur. Hos växterna bidrar vaxet till att skydda bladen från uttorkning och patogena angrepp. Insekter med skal har ett skyddande vaxlager i skalet, bin använder vax för att bygga bon och till förvaringsutrymme för vinterföda, och fåglar för att få fjäderdräkten vattentät. Vissa havsdjur lagar energi i vaxform (*Nationalencyklopedin 2008*). Den andra gruppen av vaxer är artificiella vaxer med undergrupperna kemiska vaxer och syntetiska vaxer. Kemiska vaxer tillverkas av naturliga vaxer där vaxmolekylen ändras och får nya egenskaper. Syntetiska vaxer däremot byggs upp av molekyler som inte har vaxursprung (*Clariant 2003*).

Permeabilitet i vaxer

Vaxet skall hindra vatten att tränga in till fröet samtidigt som gasutbytet av koldioxid från fröet och syre till fröet inte skall störas. I tabell 1 redovisas genomsläpplighetsdata för några typer av vaxer. Det visar att genomsläppligheten skiljer mycket mellan vaxer och att polyetenwax har de önskvärda egenskaperna med hög genomsläpplighet för syre och låg för vattenånga. Vaxlagret tjocklek har också betydelse för hur bra gasutbytet fungerar.

Tabell 1. Genomsläpplighets data för några typer av vaxer. Förtydligande av enheten för syrets genomsläpplighet $\text{cm}^3 \text{um}/\text{m}^2 \text{ d kPa}$ ger: den volym gas i kubikcentimeter (cm^3) som passerar genom en viss tjocklek i mikrometer (um) och viss area (m^2) av materialet under en viss tid d (24 timmar) och vid en viss tryckskillnad (kPa). Vattenångans genomsläpplighet mäts i gram och millimeter tjocklek genom arean, antalet dagar och trycket.

Typ av vax	Syrets genomsläpplighet ($\text{cm}^3 \text{um}/\text{m}^2 \text{ d kPa}$)	Vattenångans genomsläpplighet ($\text{g mm}/\text{m}^2 \text{ d kPa}$)
Polyetenvax (LDPE) (Briston 1989)	1850	0,005
Polyvinylalkohol (PVA) (Lange & Wyser 1997)	0,2	2584
Polyetenvinylalkohol (EvOH) (Lange & Wyser 1997)	0,05	172
Vaxblandning med mesquite gum som strukturbbyggare och en blandning av Sorbac 60 och Polysorbac 80 som vattenfas, surfaktant 20% (Bosquez 2003)		56-84

Vax i jordbruksprodukter

Bayer Crop Science har ett patent på polymerbaserad fröcoating. Idén är att använda vax, bindmedel, stabiliserare och pigment för att skapa en polymer som kan binda in bioaktiva substanser (insekticider eller fungicider) i en coating runt fröet. Coatingen ska underlätta flödet av frön i såmaskinen vilket är en förutsättning för att få en jämn sådd. Andelen vax ska vara mellan 12.5 till 30 vikt-% med ett optimalt värde på 15 %. Patentet gäller olika sammansättningar av de fyra komponenterna (Mote 1994 et al).

Kemiföretaget Clariant tillverkar vaxet Agrocer som blandas med pesticider. Vaxet har där till uppgift att stabilisera den aktiva substansen, underlätta vid frigörelsen av preparatet, ta bort ytspänningen, hålla vattenhalten i växten på en konstant nivå och fungera som ett regnfast klister för preparatet. Pesticiden hamnar på bladytan när fälten sprutas och liknar den naturliga vaxfilm som växterna producerar. Vid regn eller bevattning sköljs inte produkten av utan stannar på bladen. Vaxet skyddar också bladen från att få brännskador av pesticiden (Clariant 2005). Vaxfilmen som är kristallin ska inte störa växtens metabolism när den växer på fältet (Clariant 2005). De vaxer som används i olika produkter med Agrocer avsett för applicering med lantbrukssprutan är: Licolub WE 4, Licolub E ~, Licowax EC 25, Licowax KST, Licowax KPE och Ceridust 5551. Dessa levereras alla i pulverform. Smältpunkterna varierar mellan 60 och 99°C.

Agrocer används även för att ytbehandla frön där syftet är både att applicera pesticider och skydda fröet mot den nötning som uppkommer vid hanteringen innan sådd. Två vaxer är utvecklade för utsädesbehandling: Licomer ADH 203 och Licomer ADH 203. Båda vaxerna levereras i flytande form (Clariant 2008).

Studier där vax har använts som hämmare eller coating på biologiska produkter

Hämmare i läkemedel

Inom läkemedelsindustrin är det önskvärt med tabletter som frigör läkemedelsdoser under tidsintervallet 1 till 24 timmar. Polymerer av olika slag används kommersiellt idag och försök har även gjorts med vaxer som utgör en ytbelägningsfilm utanpå substratet *proparnolol hydrochloride* pellets. Till det försöket användes en *hot-melt coating* teknik med en toppmatad

appliceringsmaskin med flödesbädd (*Sinchaipanid et al 2005*).

Vaxcoating på frukt

Iden att använda vax för att kunna lagra frukt under en lång period är inte ny. Det finns dokumentation om att vax användes i detta syfte redan på 1200-talet i Kina. Vaxcoatingen hindrar transpirationen av syre och koldioxid samt vattenförluster. Frukten får inte tappa vikt, ändra form och färg (*Bosquez-Moluna et al 2003*). Vaxcoatingen bromsar också den biologiska nedbrytningen (*Mannheim & Soffer 1996*).

Ätbara filmer av biopolymerer kan användas i livsmedelsproduktion för att skapa barriärer för gasutbyte. Problemet är att gasutbytet blir för lågt i respirerande livsmedelsprodukter exempelvis frukt. Därför har det gjorts försök med hydrofilt hylon (*high amylose maize starch*) som fungerar bra som en barriär för gasutbyte och det fuktresistenta hydrofobiska proteinet zein. Två polymerer är inte alltid blandbara och därför har separationsegenskaperna undersökts. Polymererna separerade olika beroende på vilken behandling de utsattes för. Det hände inte mycket om filmerna kylades av medan hylon bildade aggregat om en evaporationsmetod användes (*Pettersson et al 2005*).

För att frukt skall behålla formen och därmed färskheten längre appliceras ett tunt lager med en ätbar film av lipider, proteiner och polysackarider som hindrar vattenånga från att lämna frukten. Försök har gjorts på Persisk lime där vax från *Candellila*-busken och bivax blandades in i filmen vilket minskade permeabiliteten (*Bosquez-Moluna et al 2003*). Försök har också gjorts på mandariner och satsumas där coatingen bestod av endast vax. I försöket ingick produkterna:

- Britex 505 (Brogde Co., Pomona, CA);
- PacRite-StorRite 101 som innehåller polyetylen och shellack som är en tunn lack där etanol ingår.
- PacRite-Sun-Shine, innehåller shellack (American Machinery Corp., Orlando, FL);
- Primafresh 30, innehåller carnaubavax och shellack (Johnson Wax Co., Racine, Canada);
- Decco Lustr 202, som innehåller naturliga och syntetiska vaxer och fettsyror (ELF Atochem North America Inc., Munrovia, CA)
- Natural Zivdar, innehåller carnaubavaxemulsion,
- Industrial Zivdar, innehåller polyetylenemulsion (Saif-Pac Ltd., Kfar-Saba, Israel)

Vaxcoatingen skapar en anaerob miljö inuti frukten vilket leder till att biprodukterna etanol och acetaldehyd bildas. Dessa ger upphov till icke önskvärda smakförändringar i frukten. En bra coating måste därför hindra vattenånga från att avdunsta medan respirationen skall vara opåverkad. I försöket med vaxerna ovan hindrades respirationen i alla försök. Tjockleken på vaxet hade betydelse för genomsläppligheten av vattenånga medan det däremot inte fanns något samband mellan tjockleken på vaxet och respiration. Vaxet blockerar porerna som frukten använder till gasutbyte med syre och koldioxid vilket görs lika effektivt med ett tunt lager som med ett tjockt (*Mannheim & Soffer 1996*).

Appliceringsteknik

Vaxcoating av frön är inte helt lätt. Vaxet har olika kemiska egenskaper och därför olika smältpunkter. Under smältpunkten är vaxet fortfarande formbart men inte lika lättbearbetat. Vid coating av frön skall vaxet appliceras i ett tunt heltäckande lager utan att klistra ihop med de andra fröna när det stelnar. På grund av den höga temperaturen och kravet på ett heltäckande lager går det inte att använda de betningsutrustningar som annars används vid ytbeläggning av utsäde.

Bosquez-Moluna *et al* (2003) har gjort försök med ätbara vaxfilmer på frukt. Där bestod coatingen av en fuktkärlig film bestående av lipider, polysackarider, protein och ett vax. En L4R Silverson homogeniser användes för att blanda ihop emulsionen som sedan sprayades tunt på glasplattor där den stelade filmen gick att ta av och lägga på materialet.

Inom läkemedelsindustrin sprayas vaxet på tabletter med en fluid-bed maskin (*Sinchaipanid et al* 2005).

Mannheim & Soffer (1996) mätte vaxers genomsläpplighet av syre och koldioxid. Till det använde han en filmapplicator (no. 0032), för att skapa en film med bestämd tjocklek. Genomsläppligheten av vattenånga mättes sedan på den stelnade filmen med en gaskromatograf (Becker Packard, Delft, Holland, Model 406).

Vaxcoating av frö

När det gäller vaxcoating av frö för att förhindra groning är det viktigt att vatten inte kan ta sig in i fröet, medan fröets respiration inte får störas. De önskvärda egenskaperna är därför samma som i fruktcoatingen det vill säga ett vattentätt lager som tillåter fröet att respirera.

Försöksstrukturen

Genom att blanda en vaxemulsion innehållande en vattenlösning med en syra eller bas och sen snabbt låta den stelna bildas små bubblor innehållande syra eller bas inuti vaxet. Basen eller syran som tillsätts i vattenfasen kommer att hydrolysera esterfunktionen i vaxet. Förtvålning är en naturlig process i vax som uppstår vid basiska förhållanden. Estern i vaxet hydrolyseras till en alkohol och en fettsyra, (*Hart 1999*). Vaxet skall spricka upp på samma sätt som en hård tvål kan göra. Under sura förhållanden blir slutprodukten i stället en oljesyra. Hypotesen för försöket med fördröjd groning var att bubblor med basisk eller sur lösning kommer att sakta reagera med vaxet och så småningom att frigöra fröet från vaxlagret. Efter fyra månader ska fröet vara tillräckligt befriat för att få tillgång till de faktorer som är nödvändiga för groning dvs. vatten och syre (*Baskin & Baskin 1998*). De vaxer som användes till coatingen av rapsfrö var artificiella vaxer. Naturliga vaxer som bivax har inte en konstant sammansättning och det är därför svårare att styra en förtvålningssprocess då reaktionsförloppet kan ändra sig mellan olika blandningssatser.

Material och metoder

Det experimentella arbetet utfördes i tre steg. Resultaten från ett försök utgjorde underlag för nästa försök och därför utvecklades nya försöksplaner beroende på resultaten av tidigare försök. De försök som gjordes var:

Toxicitetstest av grundvax :	Försök 1. Toxicitetsförsök
Långtidsförsök med vaxade frön i jord:	Försök 2. Hämningsförsök
Nedbrytning av vax i jord, utan frön	Försök 3. Nedbrytningsförsök

I alla försök utom Nedbrytningsförsöket som är helt utan frön, har frön från samma utsädesparti använts.

Frömaterial

Rapsfrön *Brassica napus* av sorten SW Falstaff parti I 1047, lagrat på SW till april 2008 och därefter i torrt utrymme vid rumstemperatur.

Vaxmaterial

Vaxet som användes i försöket bestod av tre komponenter:

- Monoglycerid
- Paraffin-vax med en smältpunkt mellan 54 och 56°C
- Vattenlösning (aq) H_2SO_4 för sur lösning (S), KOH för basiskt lösning (B) och H_2O destillerat vatten för neutral lösning (N).

Komponenterna bildade tillsammans en vaxemulsion med den önskvärda sammansättningen; ett tätt vax innehållande små bubblor med syra eller bas. En surfaktant tillsattes för att motverka utfällning av vattenfasen, så kallad blödning. Surfaktant (Surface Active Agent) är ett ämne med ett balanserat hydrofilt huvud och en hydrofob svans. Det tillsätts för att modifiera ytpänningen på en fasgränsyta, i detta fall mellan vaxet och vattenlösningen. En surfaktant som inte har påvisats giftig användes till försöket. En blandningssats vägde 25 gram och räckte till 2-4 petriskålar. Vaxet blödde fortfarande i Toxicitetsförsöket (Försök 1) och därför höjdes andelen surfaktant i Hämningsförsöket (Försök 2; Tabell 2). De båda vaxerna och surfaktanten vägdes med en decimals noggrannhet och placerades med omrörare i ett vattenbad med en temperatur på 65°C. Vattenfasen hölls upp i ett provrör och sänktes ned i samma vattenbad. När vaxerna var helt smälta hölls Aq-fasen i vaxet och omrörarens hastighet ändrades till 1500 rpm under 10 sekunder. Vaxerna hölls sen ut i det antalet petriskålar som behövdes till försöket.

Tabell 2. Vaxernas sammansättning i Toxicitetsförsöket (Försök 1) och Hämningsförsök (Försök 2)

Toxicitetsförsök		Hämningsförsök och Nedbrytningsförsök	
Beståndsdelar	Vikt (g)	Beståndsdelar	Vikt (g)
35% Aq-fas 5 Molar	8,75	33% Aq-fas 0,5 Molar	8,75 g
30% Paraffin	7,5	30% Paraffin	7,5
33% MG	8,25	33% MG	7,5
2% surfaktant	0,5	4% surfaktant	1,2

Försök 1. Toxicitetsförsök

Toxicitetsförsöket hade tre olika täckningsgrader: frön heltäckta av vax (T), frön halvtäckta av vax (H) och frön utan vax (led K, kontrollen)(Bilaga figur A). Vidare fanns det två inriktningar som upprepades fyra gånger för att få ett bra statistiskt underlag.

Inriktning 1, coatade frön i jord

Vaxlagret på de coatade fröna skulle vara så tunt som möjligt eftersom vaxlagret skall vara tunt på en färdig produkt. Vaxet applicerades genom att fröna placerades i ett provrör, smält vax droppades i och provröret skakades sedan med en skakmaskin (Vortex) tills vaxet stelnat. Fröna kontrollerades med stereolupp för att säkerställa att de var täckta med vax (bilaga figur B). De coatade fröna fick ligga svalt i tre dagar och lades sedan i 26 g jord med 4,5 g destillerat vatten (bilaga figur B). Skålar förslöts med parafilm. I ett provrör med ett mycket tunt lager med vax fick fröna ligga kvar och jord hölls istället direkt i provröret eftersom ytan på fröna annars blivit skadad (bilaga figur B). Petriskålarna och provröret placerades i ett mörkt konstantskåp med 15°C, där de kontrollerade varje dag första veckan för att se hur de grodde. På dag fem kontrollerades pH-värdena i marklösningen med en pH indikator.

Inriktning 2, frön ingjutna i vaxkaka

Fröna ströddes ut i en petriskål med flytande vax och fick sedan sjunka ned innan vaxlagret hade stelnat helt (bilaga figur A). De halvcoatade fröna hölls i petriskålen när vaxet redan börjat stelna och sjönk ned en bit i vaxkakan. Proverna fick ligga svalt och preparerades för groning först tre dagar senare. Ett filterpapper som dränktes in i 4,5 ml destillerat vatten placerades i petriskålarna som sedan förslöts med parafilm för att förhindra avdunstning. Petriskålarna placerades i ett mörkt konstantskåp med 15°C, där de kontrollerade varje dag första veckan för att se hur de grodde. På dag fem kontrollerades pH-värdena i vattenlösningen med en pH indikator. Fem månader efter försökets början kontrollerades vaxstrukturen med ett elektronmikroskop på YKI. Helingjutna frön från alla leden groningstestades genom att fröna befriades från sitt vaxlager och placerades i en petriskål ($\varnothing = 5,5$ cm) med ett filterpapper som var fuktat med gibberellinsyra (GA; 0,5 ml L⁻¹). Skålarna placeras i ett konstantskåp med konstant mörker och 15°C. Kontrollen var samma som i inriktning 1. Avräkning av grodda frön gjordes efter 3, 6 och 9 dagar.

Försök 2. Hämmningsförsök

I Hämmningsförsöket göts alla fröna in i heltäckande vaxkaka på samma sätt som heltäckta frön i inriktning 2 i Toxicitetsförsöket. Koncentrationerna för syran och basen hade minskats med 10 gånger för att undvika skador på frövävnaden. Vaxkakan skars i bitar med ett eller två frön helt täckta av vax i varje bit. Vaxbitarna med frön såddes i krukor med planteringsjord. Försöket innehöll följande led:

- Led A, halvtäckta frön med surt pH-värde
- Led B, täckta frön med surt pH-värde
- Led C, täckta frön med neutralt pH-värde
- Led D, halvtäckta frön med basiskt pH-värde
- Led E, täckta frön med basiskt pH-värde
- Led K, kontrollen utan vax

Tjugofem frön såddes i varje kruka. Alla leden upprepades fyra gånger utom led C där fröna bara räckte till två upprepningar (bilaga figur E).

Vaxmängden per frö varierade kraftigt och vaxet fick sprickbildningar när det skars sönder. Därför upprepades försöket tre dagar senare med frön som göts in i vax där en enkel vaxappliceringsmaskin användes för att alla fröna skulle få

samma mängd vax (bilaga figur G). Vaxappliceringsmaskinen var byggd av två 96-brunnars mikrotiterplattor där botten var utborrad, en plastskiva och en wellpappskiva. Plastskivan lades som botten under den ena plattan varefter varje brunn fick ett frö. Wellpappskivan tejpad fast i botten på den andra plattan och smält vax hällades i brunnarna. Plattan med frön placerades rakt över plattan med vax och plastskivan drogs ut. Då hamnade ett frön i varje brunn med vax innan vaxet hunnit stelna. Fröet sjönk ned halvvägs innan vaxet stelnat och fick då ett heltäckande vaxlager på några millimeter. När vaxet stelnat trycktes vaxcylindrarna ut ur plattan och såddes i planteringsjord. Försöket utökades därför med:

- Led F, täckta frön med neutralt pH-värde och lika volym vax på alla frön
- Led G, täckta frön med basiskt pH-värde och lika volym vax på alla frön
- Led H, täckta frön med surt pH-värde och lika volym vax på alla frön

De tre sista leden upprepades två gånger med 20 frön i varje kruka (bilaga figur H). Alla leden (led A-H,K) fick stå i en konstantkammare med 12 timmar ljus per dygn och temperaturen 20°C i 1,5 månader. De flyttades därefter till ett växthus där de stod ytterligare 1,5 månader. För att minska konkurrensen mellan plantorna gallrades dessa under försöksperioden (bilaga figur E t.h.). Vid försökets slut fanns det max två plantor per kruka.

Efter tre månader skördades den gröna biomassan för torkning och vägning av torrsubstansvikt (TS). Efter skörden av biomassan grävdes fröna upp ur jorden. I de led där det fanns fyra upprepningar silades upprepning 1 och 2 under varmt vatten för att få bort det mesta av det kvarvarande vaxskiktet. Upprepning 3 och 4 fick behålla sitt eventuella vaxskikt. I leden med bara två upprepningar silades bara första upprepningen under varmt vatten medan den andra fick behålla sitt vaxskikt om det inte var heltäckande. Några frön i led F-H hade fortfarande heltäckande vaxskikt. (bilaga figur I) Dessa frön skars ut ur vaxet och groningstestades separat för att se om det fanns någon skillnad på fröna som fått kontakt med vatten och de som fortfarande låg skyddade i vaxet. Alla fröna undersöktes med stereolupp för att kontrollera yttre strukturen. För att undersöka frönas livsduglighet testades groningen i petriskålar på filterpapper fuktade med GA. Skålarna placerades i ett konstantskåp med konstant mörker vid 15°C. Lagrade frön från samma parti användes till kontrollen. Avräkning av grodda frön gjordes efter 3, 6 och 9 dagar.

Försök 3. Nedbrytningsförsök

Vaxbitar utan frön från Hämningsförsöket placerades i krukor med jord och fick sedan samma behandling med bevattning och placering i konstantkammare som leden i Hämningsförsöket. Vaxbitarna vägdes innan de blev täckta av jord och efter 3 månader när försöket avslutades (bilaga Figur I). Jorden innehåller en mängd marklevande organismer som kan påverka nedbrytningen av vaxet. Därför var det intressant att jämföra nedbrytningen på vaxbitar i jord med de vaxbitarna som bara legat i en petriskål, inriktning 2 i Toxicitetsförsöket.

Statistik

För att testa om det fanns skillnader mellan leden i Hämningsförsöket (Försök 2), vad gäller grobarhet och vikt av ovanjordisk biomassa och groningsfrekvens utfördes en envägs variansanalys på data i försöksled A – E. Led F-G ingick inte i variansanalysen eftersom de såddes senare, hade en annan mängd vax och var en snarlik upprepning av led A, C och E. T-test användes för parvisa jämförelser där alla de olika leden jämfördes mot varandra. För att kompensera för den binomiala fördelningen arcsin-transformerades värdena inför analysen av groningstesterna.

Resultat

Försök 1. Toxicitetsförsök

Fröna i de båda inriktningarna fick ligga svalt i tre dagar efter vaxappliceringen innan de fick tillgång på vatten vilket är en förutsättning för groningen.

Inriktning 1, coatade frön i jord

Olika mängd vax prövades till coatingen av fröna. För mycket vax ledde till att alla fröna klumpade ihop sig, medan det var tveksamt om alla fröna var täckta när lite vax användes. Det var svårt att ta ut fröna från provröret utan att skada coatingen när vaxlagret var tunt. Kontroll med stereolupp visade att de heltäckta fröna hade en mer glansig yta (bilaga figur B) jämfört med frön utan vax. Enstaka frön var helt täckta i de leden som bara borde ha varit halvtäckta. Alla frön i de heltäckta leden var heltäckta.

Fem dagar efter sådd växte groddarna genom jorden i kontrollen. Enstaka groddar fanns också i en upprepning av det täckta basiska ledet och i en upprepning i det neutrala ledet. pH-värdet i marklösningen närmast fröet låg nära neutralt (Tabell 3). Jorden har en buffrande effekt och neutraliserar pH-värdet runt fröna. På dag nio började det synas groddar i alla leden (bilaga figur D). En hel del frön ca 20 % hade grott i 2 av 4 upprepningar i det basiska heltäckta ledet. Båda upprepningar i det neutrala ledet hade närmare 100 % uppkomst. Enstaka groddar var synliga i det halvtäckta sura ledet (Tabell 3).

Inriktning 2, frön ingjutna i vaxkaka

Under de tre dagarna som fröna lagrats i vaxet hade vaxkakorna i det basiska ledet blött och basen reagerat med fröna (bilaga figur C). Vaxet runt fröna var brunfärgat och det luktade sött av en lukt som påminde om betmassa. Fröna i det halvtäckta basiska ledet var mest brunfärgat medan de heltäckta var svagt färgade.

Kontrollen grodde dag tre och hade en grobarhet på 100 %. Fem dagar efter sådd grodde de halvtäckta fröna i de neutrala vaxerna (bilaga figur C). Det fanns fortfarande inga tecken på groningen i de sura och basiska leden. De sura leden hade fått en svag röd färg och fröna i de basiska leden flöt i en brun gegg. Därför kontrollerades pH-värdet i några upprepningar i alla försöksleden, tabell 3. Det visade sig att pH-värdet i de basiska skålarna låg mellan 8-10, mellan 1-2 i den sura och 4-5 i de neutrala. På dag nio var läget oförändrat.

Tabell 3. Grobarhet och pH-värde. Toxicitetsförsöket vid fröna den 5:e dagen efter sådd.

Täckningsgrad	pH- Värde	Uppkomst/Grodda %	pH dag 5
100%	Basisk	15	6
Inriktning 1	Sur	3,8	6
coatade i jord	Neutral	80	4
50%	Basisk	0,5	8
Inriktning 1	Sur	2,5	5
coatade i jord	Neutral	-	-
100%	Basisk	0	10
Inriktning 2	Sur	0	1
ingjutna i vax	Neutral	0	5
50%	Basisk	0	10
Inriktning 2	Sur	0	1
ingjutna i vax	Neutral	70	5
0% kontrollen	neutralt	100	5

Fyra månader efter försökets början groningstestades heltäckta frön från inriktning 2. De heltäckta sura och basiska fröna hade onaturliga färger och formationer och grodde inte. Fröna som legat helt ingjutna i neutralt vax såg bra ut från början, men efter några dagar med GA i konstantskåpet hade de fått mjuk struktur och grodde aldrig (bilaga figur F). Kontrollen grodde efter 4 dagar. Frön som var halvcoatade med neutralt vax och sedan lagrats torrt groningstestades också. Dessa grodde 1-2 dagar efter kontrollen. Vaxvolymen i petriskålarna hade inte påverkats under försöket och var därför samma vid försökets slut.

Försök 2. Hämningsförsök

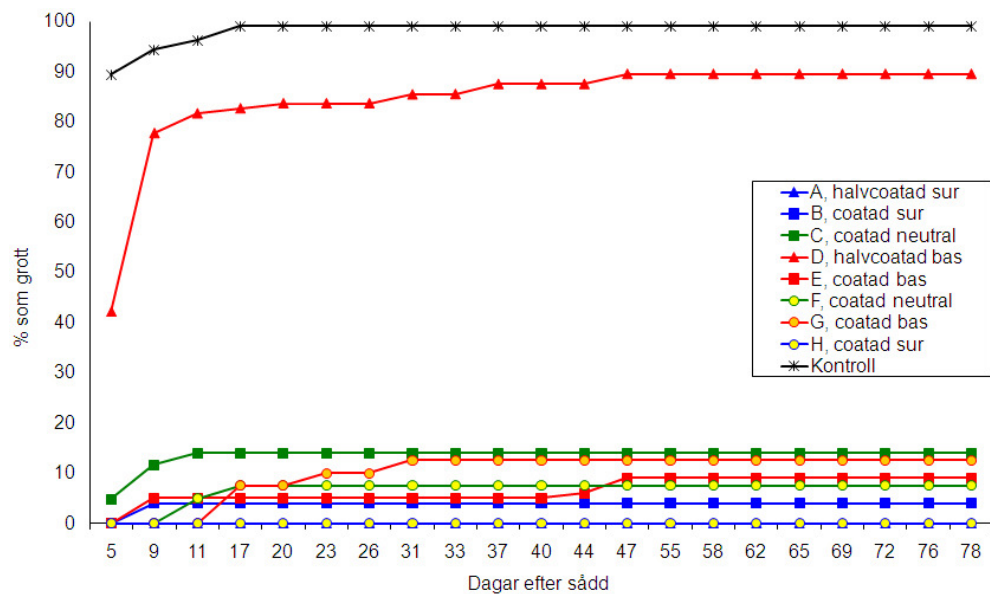
Hämningsförsöket genomfördes direkt efter Toxicitetsförsöket. Skillnader i grobarhet beräknades genom en variansanalys för led A-E samt kontroll, där alla led utom de helcoatade neutrala hade 4 upprepningar för alla försöken. Fröna räckte inte till 4 upprepningar i det helcoatade neutrala ledet. P-värdet i ANOVA-tabellen ($p < 0,000$) visar att det finns signifikant skillnad mellan leden (tabell 4).

Tabell 4. ANOVA-tabell för grobarheten i led A-E

	Df	F	p-värde
Led	5	45,2	<0.0001
Error	16		
Total	21		

Alla led utom A hade minst ett frö som grodde och växte upp till en planta. Led A, B, C och E var signifikant skilda från led D och K ($p < 0,000$) där frön grodde i alla lådor. D och K var inte signifikant skilda åt. Det fanns inte heller någon signifikant skillnad mellan led A, B, C och E. Fyra dagar efter sådd hade alla frön i kontrolleret (K) grott och hälften av de halvcoatade i det basiska ledet. pH-mätning i vatten med uppslammat vax visade att det basiska vaxet hade ett neutralt värde medan det sura vaxet hade ett pH på 4. Enstaka frön grodde i de andra leden. Sämst grobarhet hade de sura (S) leden. Grobarheten var generellt sämre i led F-H, där alla frön hade lika mängd vax, jämfört med A-E där vaxmängden varierade (figur 3). 78 dagar efter sådd avslutades försöket. Kontrollen och halvcoatad bas hade då en hög grobarhet medan de andra låg mellan 0-15% (figur 4).

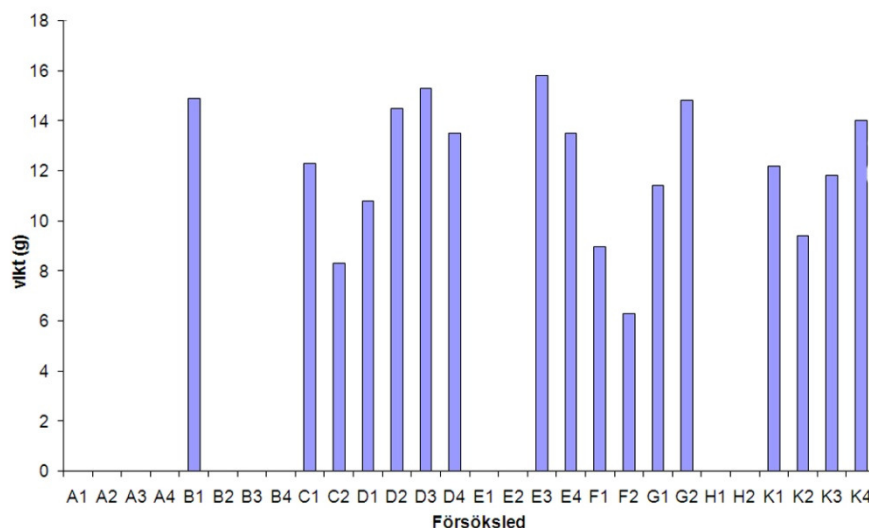
Efter 78 dagar hade rapsplantorna vuxit ett par decimeter. Bladen var många fler och större än vad som är önskvärt för invintring av höstraps. Eftersom plantorna saknade en vernaliseringsperiod hade de bara fortsatt att växa utan att sätta blomställning. Ingen kemisk behandling var gjord och därför var plantorna fulla med mjöldagg. I de krukor där fröna grott var plantantalet gallrat till 2 plantor per kruka. I krukorna C1 och F1 var det bara ett frö som grott och lyckats utvecklas till planta. Inga tillväxtdeformationer var synliga, utan rapsplantorna hade växt normalt. Led E och D har stått i mitten av odlingslådan. Eftersom led A inte grodde är det bara led E som inte fått en kanteffekt dvs. mer utrymme och ljus jämfört med krukorna som står i mitten. Variationen inom leden är stor. Mest biomassa gav led D som ligger över kontrollen. Den basiska miljön kan höja pH-värdet i jorden runt fröna vilket ger bättre tillgänglighet av vissa näringsämnen. Skillnaden är inte tillräckligt stor för att statistiskt säkerställa att behandlingen är orsaken till skillnaden. Variansanalysen för ovanjordisk biomassa visade på signifikant skillnad mellan leden med ett p värde på 0,015, tabell 5. Den parvisa jämförelsen visade att led A och D var signifikant skilda från led B, C och E ($p < 0,018$). Ingen annan signifikant skillnad fanns mellan leden. Den ovanjordiska biomassan mätt i torrsubstans (TS) finns redovisad i figur 5.



Figur 4. Grobarhet för fröna i Hämningsförsöket (försök 2). Vaxmängden som omgav de olika fröna i led A-E varierade i volym medan fröna i led F-H omges av konstant vaxvolym.

Tabell 5. ANOVA-tabell för ovanjordisk biomassa i led A-E

	Df	F	p-värde
Led	5	4,01	0,015
Error	16		
Total	21		



Figur 5. Ovanjordisk biomassa i försöksleden A-F och kontrollen med 4 upprepningar. Led A sur helcoatad, Led B basisk helcoatad, Led C neutral helcoatad, Led D basisk halvcoatad, led E Basisk helcoatad, Led F Neutral helcoatad, Led G basisk helcoatad, Led H sur helcoatad. C1 och F1 har bara en rapsplanta per upprepning medan de andra har två rapsplanter.

Inga frön som behandlades med GA efter 78 dagar grodde, utan de blev i stället kraftigt attackerade av sekundära patogener (bilaga figur F). Fröna som legat helt ingjutna i vax led F-H såg bra ut när de plockades ur vaxet, men efter några dagar med GA i konstantskåpet hade de fått mjuk struktur och grodde aldrig. Kontrollen grodde efter 4 dagar.

Nedbrytningen av vaxet

Mikroberna i jorden hade påverkat vaxytan (bilaga figur I). Speciellt tydligt var det på de vaxbitar där stora delar av massan hade försvunnit. Vaxet hade brutits ned i större utsträckning i led A-E jämfört med led F-H. Elektronmikroskopbilder (ESEM) visar att det sura vaxet har tydligast förändringar i strukturen (bilaga figur L) jämfört med basiskt (bilaga figur K) och neutralt (bilaga figur J). För det basiska vaxet förväntades en mindre förändring eftersom övergången från GM till oleat inte skapar någon smältpunktsförändring utan oleatet ska dra åt sig mer vatten vilket orsakar en texturförändring som gör att filmen krackelerar och spricker upp. Det krävs ett tunt skikt för att få den effekten. Ingen större skillnad finns mellan basiskt vax och neutralt vax.

Försök 3. Nedbrytningsförsök

Nedbrytningsförsöket var placerat tillsammans med Hämningsförsöket vilket bevattnades under försöksperiodens gång. Därför bevattnades även Nedbrytningsförsökets lådor vilket störde ordningen på vaxbitarna. Det var därför omöjligt att skilja vaxbitarna åt vid försökets slut. Vaxbitarna var små och hade därför stor yta mot jorden. Från början vägde de tillsammans 13,4 gram. Vid försökets slut fanns det bara 0,86 gram vax kvar vilket bara är drygt 6% av den ursprungliga massan. Vaxbitarna hade rundade kanter och stora gropar vilket tyder på mikroberna har brutit ned delar av vaxet.

Diskussion

Resultatet visar på hur svårt det är att hitta en beläggning som uppfyller kraven för fördröjd groning med en inbyggd tidsfaktor. Fler försök men en bättre appliceringsmetod är nödvändiga för att kunna bestämma om vax är rätt material att utveckla en groningshämmande produkt av. Reläodling med en vårsådd spannmål och raps ger många fördelar i ett jordbrukssystem där bättre utnyttjande av växtnäring och därmed minskat läckage är en av de viktigaste. Minskad energianvändning och bättre markstruktur är också en positiv effekt.

Groningsfrekvensen

Kontrollen i de olika försöksleden grodde alltid en dag tidigare än de frön som var halvtäckta med vax eller halvcoatade. Det berodde troligtvis på att det bara var halva ytan av fröet som kunde ta upp vatten, vilket försenade groningsprocessen. De höga och låga pH-värdena påverkade fröna negativt i Försök 1 (Toxicitetsförsöket). Därför sänktes koncentrationerna av syra och bas i Försök 2 (Hämningsförsöket). Det försöket visade att syran fortfarande skapade ett för extremt pH-värde för fröna att gro i samtidigt som vaxet inte hade brutits ned helt utan bara ändrat struktur. De halvcoatade basiska fröna visade att den basiska lösningen på 0,5 M inte var några problem för frönas grobarhet.

Det var stor skillnad på den vaxmängd som omgav fröna i de olika försöken. Ju mindre vax och mer jord desto större buffringseffekt från jorden och därför mindre påverkan på fröet när det väl grott. Innan grodden har brutit sig igenom fröskalet påverkas fröet bara av pH-värdet i vaxet. Några bubblor med syra eller bas kommer att ligga dikt an mot fröet och koncentrationen får därför inte vara för stark samtidigt som den ska vara tillräckligt stark för att kunna bryta ned vaxet på tre månader. Syran fungerar därför inte enligt dessa försök eftersom koncentrationen var för svag för att bryta ned vaxet i försök 2 samtidigt som fröna tog skada. Koncentrationen av bas kan höjas då denna också var för svag för att skapa sprickor i vaxet, men fröna tog här ingen skada.

Appliceringsmetod

Appliceringsmetoden är ett problem eftersom vaxet börjar stelna direkt under 65°C och därför inte kan köras i en vanlig betningsmaskin. Vaxlagret var därför för tjockt för att spricka upp i det basiska ledet. I försök 2 (Hämningsförsöket), led A-E, skars de coatade fröna ut ur vaxkakan. Problem uppstod eftersom det bildades sprickbildning i vaxet vilket skapade vägar för vatten att tränga sig in till fröet. På grund av detta togs beslutet att lägga till leden F-H där ombyggda mikrotitorplattor användes för att gjuta in fröna i samma volym vax samtidigt som vaxet inte behövde skäras loss utan bara tryckas ut ur plattan. Anledningen till den något högre grobarheten i led A-E jämfört med F-G där halvcoatade led med samma pH-värde jämfördes med varandra (Figur 3) beror troligen på sprickbildningen och ökad tillgång på vatten till några frön.

Levnadsduglighet hos frön helt täckta av vax

De frön som var halvcoatade grodde inte under de tre månader som försöket pågick vilket var ett önskvärt resultat. Fröna i försök 2 (Hämningsförsöket) var svåra att hitta efter tre månader och oftast hittades bara fröskalet eller så var fröet helt försvunnet. Det visar på att fröna har skadats på något vis och därefter brutits ned. En del av de frön som fanns kvar var definitivt inte livsdugliga eftersom de var mjuka eller det fanns sprickor i skalet. De andra fröna var fortfarande runda och fasta till att börja med, men efter groningsbrytning med GA blev de mjuka och angripna av patogener och var således inte levnadsdugliga och betecknades som döda. Fröna som inte grodde de första veckorna i Hämningsförsöket dog. Då många av dem redan hade förmultnat vid försökets slut och de som fanns kvar inte var livsdugliga måste slutsatsen bli att det är någon process under försökets gång som dödar dem. Enstaka frön grodde efter en månad vilket visar att åtminstone en del av fröna fortfarande var levnadsdugliga då. Groningstest med frön från Försök 1 (Toxicitetsförsöket) visar att frön i det sura ledet inte grodde då syran tros ha fränt sönder fröskalet. De basiska fröna var uppsvällade och gula och grodde inte.

Förvånande är att det neutrala ledet inte heller uppvisade några livsdugliga frön. Den intensiva vattningen i hämningsförsöket kan ha lett till syrebrist när fröet blev befriat från sitt vaxlager och därför dött. Groningsförsök med frön från Toxicitetstestet som legat helt ingjutna i vax utan kontakt med vatten visar att det inte är bevattningen som är orsaken till att fröna har dött. Troligtvis var vaxskiktet för tätt och släppte inte igenom den lilla mängd syre som fröet behövde för att upprätthålla livsnödvändig metabolism, vilket ledde till att fröet dött på grund av syrebrist. Fröna kan också ha blivit koldioxidförgiftade eftersom gasutbytet inte fungerade. Det är möjligt att resultatet hade varit annorlunda om vaxlagret varit betydligt tunnare.

Deformationer på rapsplantor

Rapsplantorna som grodde i hämningsförsöket visade inga konstiga deformationer och det var inte heller någon skillnad på biomassan mellan leden förutom i led A där inget frö grodde. Om fröet lyckas gro har det därför inga problem med den något surare eller basiska miljön runt rötterna.

Nedbrytningen av vaxet

Vid Nedbrytningsförsökets slut fanns bara 6% av den ursprungliga vaxmassan kvar. Studier i elektronmikroskop visade tydliga spår efter mikrober. Organismer i jorden påverkar nedbrytningshastigheten i vaxet. Vaxerna i led F-H var minst påverkade av mikrobiell aktivitet. I de flesta fall var vaxbitarna i led F-H större och kompaktare, men det fanns stora vaxbitar även i led A-E. Att de stora bitarna i led A-E har brutits ned snabbare än led F-H tyder på att ytan har skadats vid sönderskärningen och därför har det funnits mer yta för mikroberna att attackera.

Framtida försök

Vaxerna täcker igen porer som fröet använder till gasutbytet. Om vax skall användas till fördröjd groning måste permeabiliteten öka vilket ger ett ökat gasutbyte. Tillräckligt med syre måste passera genom vaxlagret för att fröet ska kunna överleva viloperioden. Vax med "gore-tex-effekt" som släpper igenom gas men inte vatten är därför önskvärt. Ett lager med något annat material närmast fröet kan vara en lösning för att förhindra att porerna täpps igen. Det skulle leda till ökat gasutbyte. Det befintliga vaxet behöver också appliceras i mycket tunnare lager för att få ut de rätta egenskaperna. Det är möjligt att ett tunnare lager bryts ned för snabbt vilket skulle kunna lösas med en lägre koncentration av vattenfasen. Det behövs därför en bra appliceringsmetod. Syran och basen reagerar snabbare med vaxet då det är i flytande fas. Därför bör appliceringen göras snabbt. Syran är svår att använda då den ger för mycket påverkan på själva fröet. Basen fungerar bra i låg koncentration. Vid val av vax kan vaxets permeabilitet först testas med en gaskromatograf för att få rätt egenskaper.

Fler studier behöver göras för att undersöka markorganismernas påverkan på vaxet. Det är möjligt att markorganismerna fungerar bra för att bryta vaxbarriären efter en viss tid och att fasen med syra eller bas inte är nödvändig. Det är också möjligt att vaxet bryts ned allt för snabbt och att något behöver tillsättas i vaxet eller utanpå för att hindra markorganismernas aktivitet.

Ett annat spår att fortsätta på är att använda lipas istället för en syra eller bas till att bryta ned vaxet. Lipas är ett enzym som verkar i gränsytan mellan olja och vatten. Det bryter ned vattenolösliga triglycerider och är därför lämpligt att använda till att bryta ned vaxet. Fördelen med lipas jämfört med syra eller bas är att lipas ger ett pH neutralt vax och därför lämpligare miljö för ett frö.

Referenser:

- Alboresi A., Gestin C., Leydecker M.-T., Bedu M., Meyer C. & Truong H.-N. (2005). Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant, Cell & Environment* 28: 500–512
- Anonym (2009) Products for Crop Protection and Seed Treatment / Pigments & Additives Division Business Unit Specialities *Clariant*, Storbritannien
- Anonym (2008) Årets höga oljehalt kräver lägre vattenhalt vid lagring. *Svensk frötidning* 6: 24
- Baskin C.C. & Baskin, J.M. (2001) *Seeds - ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*, Academic press, San Diego
- Bewly J.D. & Black M. (1994) *Seeds- Physiology of development and germination*. 2:a upplagan. Plenum Press, New York
- Blomquist J. (2006) Halmen avgör rapsens öde. *Svensk frötidning* 4: 24-26
- Blomquist J. (2007) *Vägen till 5 ton Rapport från Svenska Raps AB Projekt 20/20* Norra Skåne Offset Sweden
- Bosquez-Molina E., Guerrero-Legarreta I. & Vernon-Carter E.J. (2003) Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum.candelilla wax based edible emulsion coatings. *Food Research International* 36: 885–893
- Brady N.C. & Weil, R.R. (1999). *The nature and properties of soils*. 12th edition. Collier Macmillan, New York.
- Briston J.H. (1989) *Plastic Films*. Longman Scientific & Techn Plastic Rubber Institute. 3 upplagan
- Bulson H.A.J., Snaydon R.W. & Stopes C.E. (1996) Effects of plant density on intercropped wheat and field beans in an organic farming system. *The Journal of Agricultural Science* 128: 59-71
- Clayton G.W., Harker K.N., O'Donovan J.T., Blackshaw R.E., Dosdall L., Stevenson F.C., Johnson E.N. & Ferguson T. (2004) Polymer seed coating of early- and late-fall-seeded herbicide-tolerant canola (*Brassica napus* L.) cultivars *Canadian Journal of Plant Science* volym 84: 971-979
- Eriksson J., Nilsson I. och Simonsson M. (1995) Växtnäringsämnenas förekomst och reaktion i marken. *Wiklanders marklära* Studentlitteratur Lund, Sweden
- Finch-Savage W. E. & Leubner-Metzger G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171: 501-523
- Gustavsson A. (1995) Växtnäringsläckage från jordbruk till vatten. Aktuella resultat med tonvikt på södra Sverige. *Meddelanden från Södra jordbruksdistriktet*. Södra jordbruksförsöksdistriktet SLU, nr 46
- Hardenburg, R. E. (1967) *Wax and related coatings for horticultural products a bibliography*. USDA Publication 15-51; U.S. GPO: Washington, DC
- Hart H., Craine L. & Hart D. (1999) Lipids and Detergents. *Organic Chemistry- A short course* 10:e upplagan, Boston, Hough Mifflin Company, USA

- Hauggaard-Nielsen H. & Jensen E.S. (2001) Evaluating pea and barley cultivars for complementarity in intercropping at different levels of soil N availability. *Field Crop Research* 72: 185-196
- Haynes R.J. (1980) Competitive aspects of the grass-legume association *Advances in Agronomy* upplaga 33, sidor 248-253 San Diego Academic Press, USA
- Heionen R. (1986) Åtgärder mot packningen/ Självläkning i marken *Rapporter från Jordbearbetningsavdelningen nr 71* sidor 165-172
- Henriksson L. och Christerson T. (1999) Jordbearbetningens och såtidens effekter på mineralisering, upptagning och utlakning av kväve i höstsådda grödor. *Sydsvensk jordbruksforskning. Institutionen för jordbrukets biosystem och teknologi (JBT)* nummer 49
- Innis D. Q. (1997), *Intercropping and the scientific basis of traditional agriculture*, tryck i Storbritannien av SRP
- Karlsson L.M. (1997) *Seed dormancy and Germination in an ecological context*. Doktorsavhandling, LiU-Tryck, Linköping
- Khan Z.R, Ampong-Nyarko K., Chiliswa P., Hassanali A., Kimani S., Lwande W., Overholt W.A., Picketta J.A., Smart L.A. & Woodcock C.M. (1997) Intercropping increases parasitism of pests. *Nature* 388: 631-632
- Kimber D. & McGregor D.I. (1995) *Brassica oilseeds, Production and Utilization* University Press, Storbritannien
- Lange, J. & Wyser, Y. (2003) Recent Innovations in barrier technologies for plastic packaging. *Packing Technology and Science* 16: 149-158
- Malitschek O., Kammermeier B., Kapfer W., Kiesel H., Piesold J.P., Pyka P. & Schmalzl M. (2003) *Waxes by Clariant – Production, characteristics, and applications* W 320 Storbritannien
- Mannheim C.H. & Soffer T. (1996) Permeability of different wax coatings and their effect on citrus fruit quality. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 44: 919-923
- Mattsson L. (2008) Höjt pH ökar fröskörden. *Svensk Frötidning* 6: 6-7
- Mote, J.S., Hanson, W.S. & Rosa, F.C. (2007) *A polymerbased seed coating* WO/2007/103076 Patent
- Peltonen-Sainio P., Känkänen H. & Pahkala K. (2006) Polymer coated turnip rape seed do not facilitate early broadcast sowing under Finnish growing conditions. *MTT Gricultural and Food Science* 15:152-165
- Petersson M., Lorén N. & Stading M. (2005) Characterization of phase separation in film forming biopolymer mixtures. *Biomacromolecules* 6: 932-941
- Redmann R.E & Abouguendia Z.M. (1979) Germination and seedling growth on substrates with extreme pH – Laboratory evaluation of buffers. *Journal of Applied Ecology* 16: 901-907
- Rose D.H. (1915) A study of delayed germination in economic seeds. *The Botanical Gazette* 59: 425-444

Roslon E. (2003) *Relay Cropping of Spring Barley and Winter Wheat* Swedish university of agricultural sciences, Acta universitatis agriculturae Suecia, Agraria 427

Shelton A.M & Badenes-Perez F.R. (2006) Concepts and application of trap cropping in pest management. *Annual Review of Entomology* 51: 285-308

Sinchaipanid N., Junyaprasert V. & Mitrevej A. (2004) Application of hot-melt coating for controlled release of propranolol hydrochloride pellets. *Powder Technology*, Volume 141: 203-209

Sixtensson O. (2006) *Kväve i mark och gröda från sådd till skörd vid odling av höstraps (Brassica napus L.)* Avdelningen för precisionsodling Examensarbete Nr 2, Skara

Stendahl F. (2005) *Seed Coating for delayed germination* Licentate thesis Swedish university of Agricultural Sciences, Sweden

Sjöberg A. (2001) Bra förfrukter viktiga i kampen mot rotdödare. *Svensk Frötidning* 7: 8-9

Upadhyay B.M., Smith E.G., Clayton G.W., Harker K.N., O'Donovan J.T. & Blackshaw R.E (2007) Economic value of polymer seed coat for fall-seeded canola. *Agronomy Journal* 99: 489-493

Vandermeer J. (1989) Intercrops and Ecology. *The ecology of intercropping*, Cambridge University press, Storbritannien

Wigh L. (2008) *Behandling av utsäde - litteraturstudie samt försök med dragerat rapsutsäde för fördröjd groning*. Examensarbete på institutionen för växtproduktionsekologi, SLU, Sweden

Personlig kommentar

Hökeberg M. (2008) Lantmännen lantbruk Bioagri, intervju 2008-11-06

Internetlänkar

Bioagri www.bioagri.se 2008-10-05
Specifik sida: <http://www.bioagri.se/cerall.html>
Specifik sida: <http://www.bioagri.se/cedomon.html>
Specifik sida: <http://www.bioagri.se/pseudomonas.html>

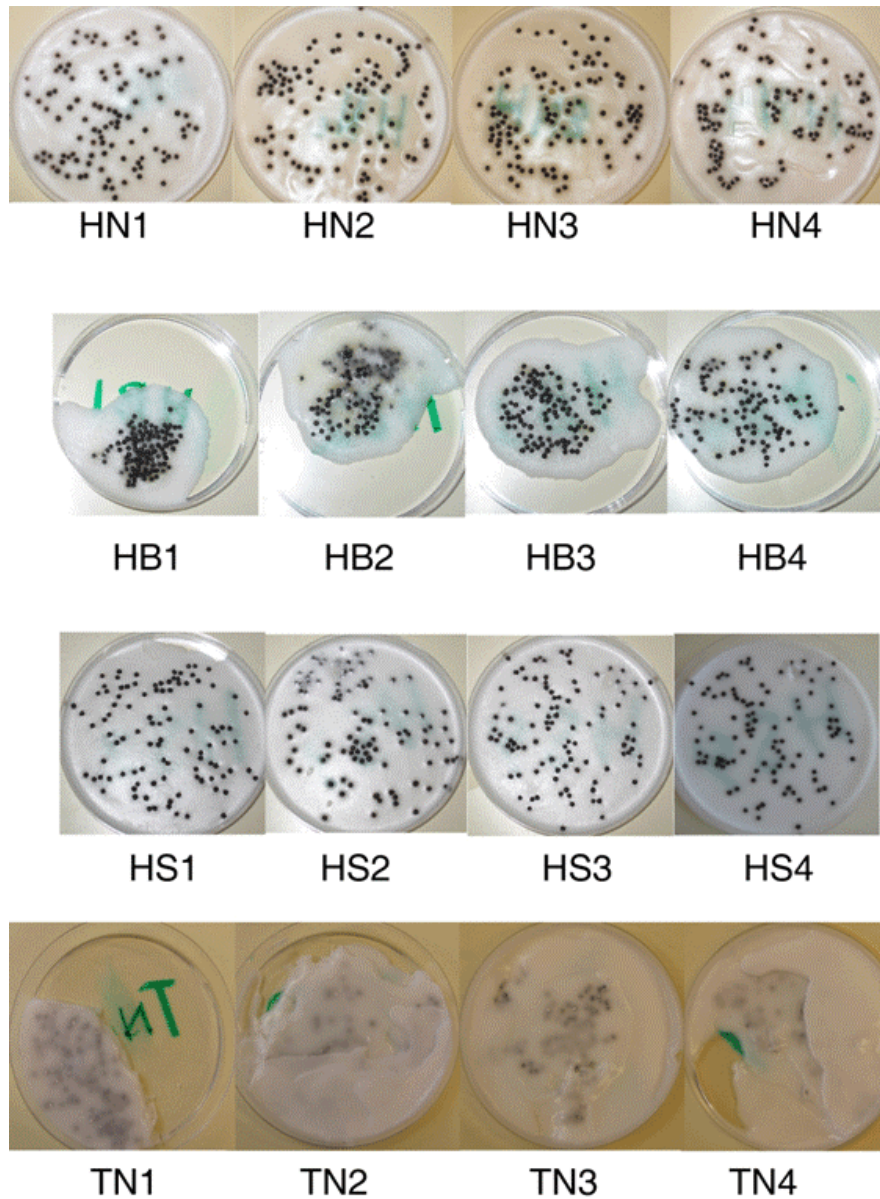
Clariant: www.clariant.org 2008-11
Crop protection and seed treatment:
Agrocer- Waxes as filmforming and adjuvants- wetting and sticking agent in one product:

LandAg: www.landag.com 2009-01-14

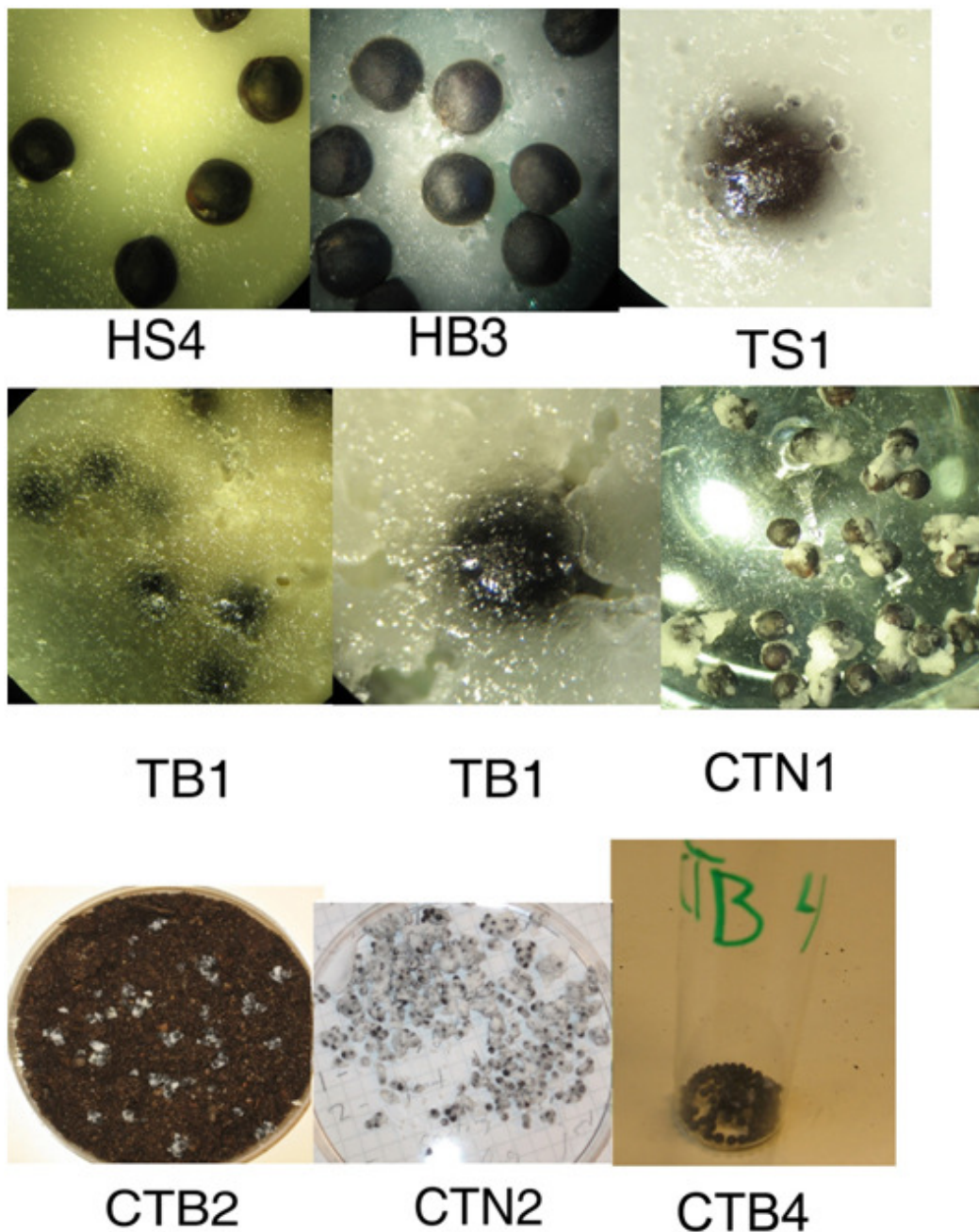
Nationalencyklopedin www.ne.se 2008-11-31
Specifik sida: <http://www.ne.se/artikel/340185>

Svensk raps: www.svenskraps.se 2008-11-28
Specifik sida om arealer för raps: <http://www.svenskraps.se/oljevaxt/index.asp>

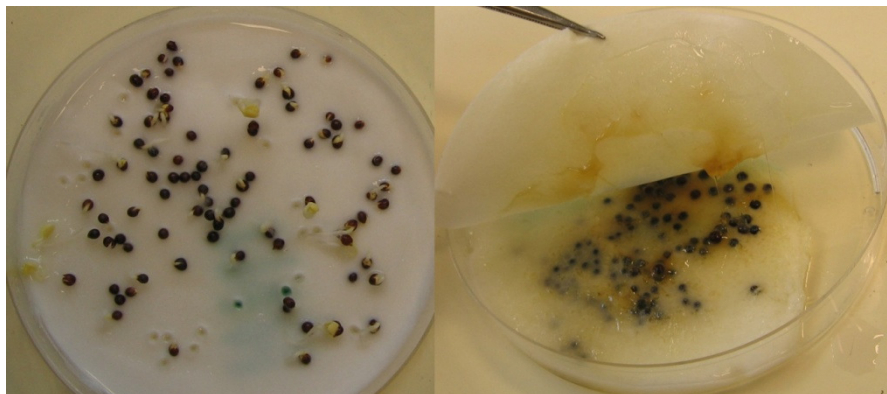
Bilaga



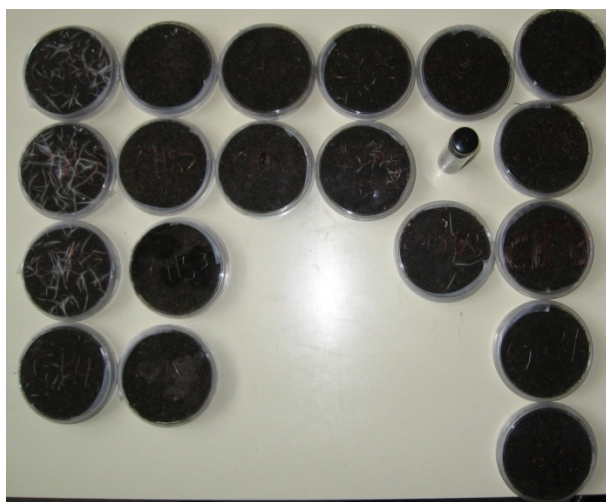
Figur A. Petriskålar med vax precis innan de preparerades för groning i konstantskåp. De översta 3 raderna visar de halvtäckta leden med Neutralt, Basisk och Surt i fallande ordning. Nedersta raden visar det heltäckta neutrala ledet.



Figur B. Den översta bilden frön vänster visar halvtäckta frön i surt vax. Vaxet innehåller små bubblor vilket kan jämföras med nästa bild där vaxet är basiskt med stora kratrar runt fröna. Bild 3 i översta raden visar ett coatat frön (helt ingjutet) i det sura ledet och följande 2 bilder samma sak i det basiska ledet. CHN1 är neutralvax coatade frön där vaxlagret är dåligt täckande på några av fröna jämfört med CTN2 där vaxlagret är betydligt tjockare. .



Figur C. Till vänster det halvtäckta neutrala vaxet med frön som har grott. Till höger det basiska vaxet som har blött och löst upp delar av fröna. Dessa grodde inte.



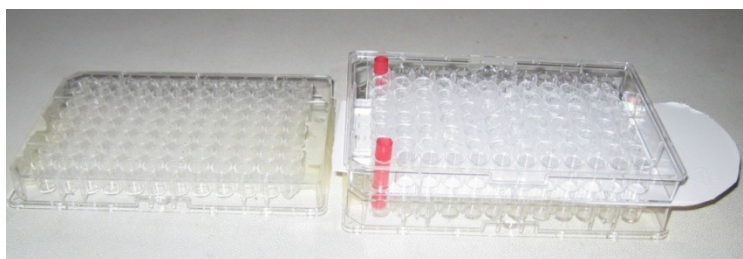
Figur D. Undersidan på de coatade fröna i jord. Rotutvecklingen visar om fröna har grott eller inte. De 4 skålarna längst till höger är kontrollen med kraftig rottillväxt. I nästa 4 skålar är fröna halvcoatade med ett surt vax och ingen har grott. Den tredje kolumnen är halvcoatade basiska frön där en grodd syns i den översta skålen. Nästa 2 är neutrala med bra groddbarhet. Följt av det coatat surt led där 5 stycken frön har grott i den nedersta skålen och inga i den översta. Kolumnen längst till höger är de coatade basiska frön där enstaka 14 frön grodde i skål 4 och 1 i skål 3.



Figur E. Från vänster led K, E, B, C, D och A i hämningsförsöket. De nedersta 2 lådorna i C- ledet tillhör Nedbrytningsförsöket med endast vax. Vaxmängden varierar mellan fröna. Till höger en rapsplanta i gallringsstadie. När bladen täckte krukan gallrades de till 2 plantor per kruka.



Figur F. Vid försökets slut grävdes fröna upp för att kontrollera om det fortfarande var liv i dem. Efter en vecka i konstantskåp och behandling med GA såg de flesta frön ut som på bilden ovan. Inga frön grodde. Bilden längst ned till höger visar ett uppskuret frön. Skalet var intakt men innehållet var pulveraktigt. En del av fröna var också angripna av mögel, översta bilden till höger.



Figur G. En enkel vaxgjutningsform byggd av två Mikrotiterplattor med 96 brunnar där brunnarna är uppborrade. Ett frö per brunn placeras i den översta plattan. Den vita plastskivan fungerar i stället som botten. Vaxet hälls ned i brunnarna på den undre plattan som har en avtagbar botten av wellpapp. Den övre plattan placeras snabbt ovanpå och den vita plastskivan dras bort. Fröna hamnar då i det flytande vaxet där de sjunker ned till halva brunnens djup innan vaxet stelnar.



Figur H. Led F-G där F är neutralt vax, G är basiskt och H surt. Fröna räckte till två upprepningar och det är 20 frön per låda. Alla fröna är ingjutna med lika stor mängd vax. Vaxlagret är mycket tjockare än vad det kommer att bli i den färdiga produkten, där lagret inte kommer vara mer än några mikrometer tjockt.

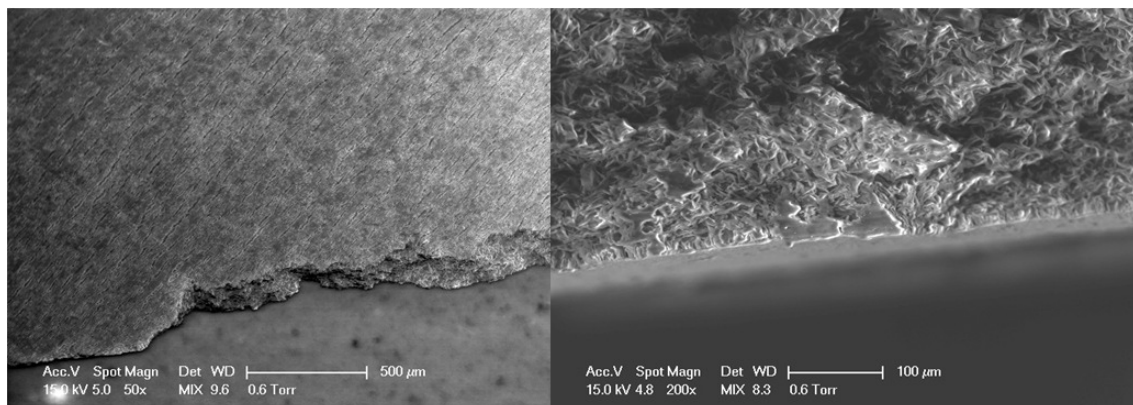


Figur I. Till vänster: De coatade fröna från led G, basiskt led. Vaxbitarna i led F-G som hade en konstant mängd vax var inte lika påverkade av vaxnedbrytande mikrober. Fröet hade frigjorts från vaxet i de fallen där fröet legat nära kanten från början annars låg de fortfarande skyddade inne i vaxlagret.

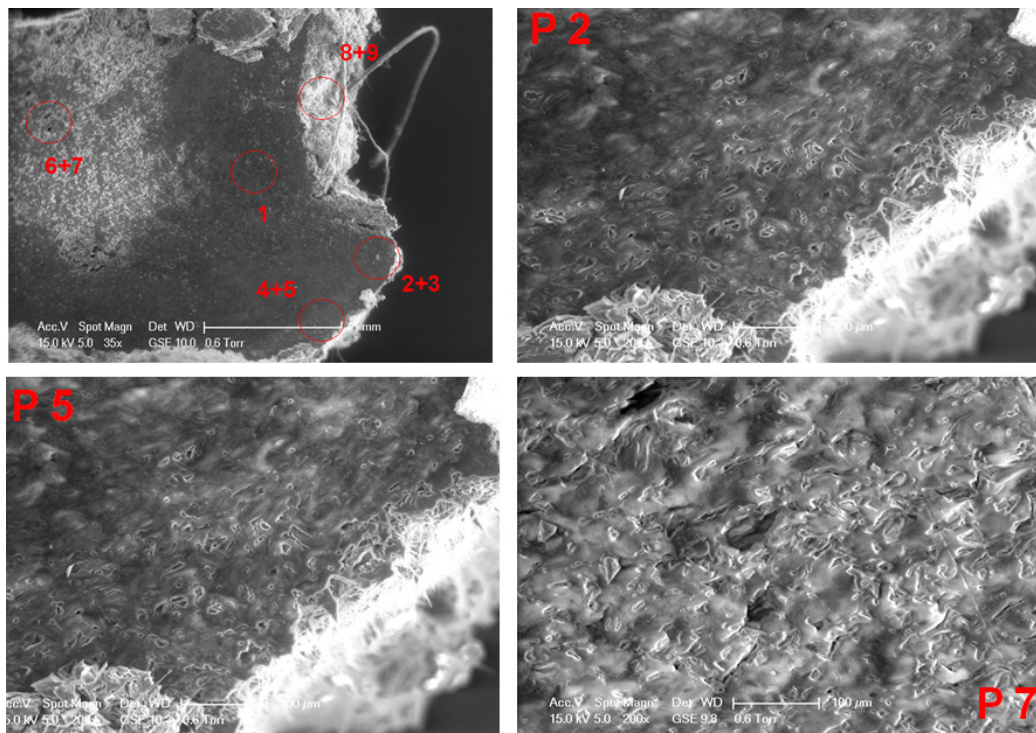
Mittenbiden: Nedbrytningsförsöket, vaxbitarna vid försökets början

Till höger: Vaxbitarna i nedbrytningsförsökets slut efter tre månader i jorden.

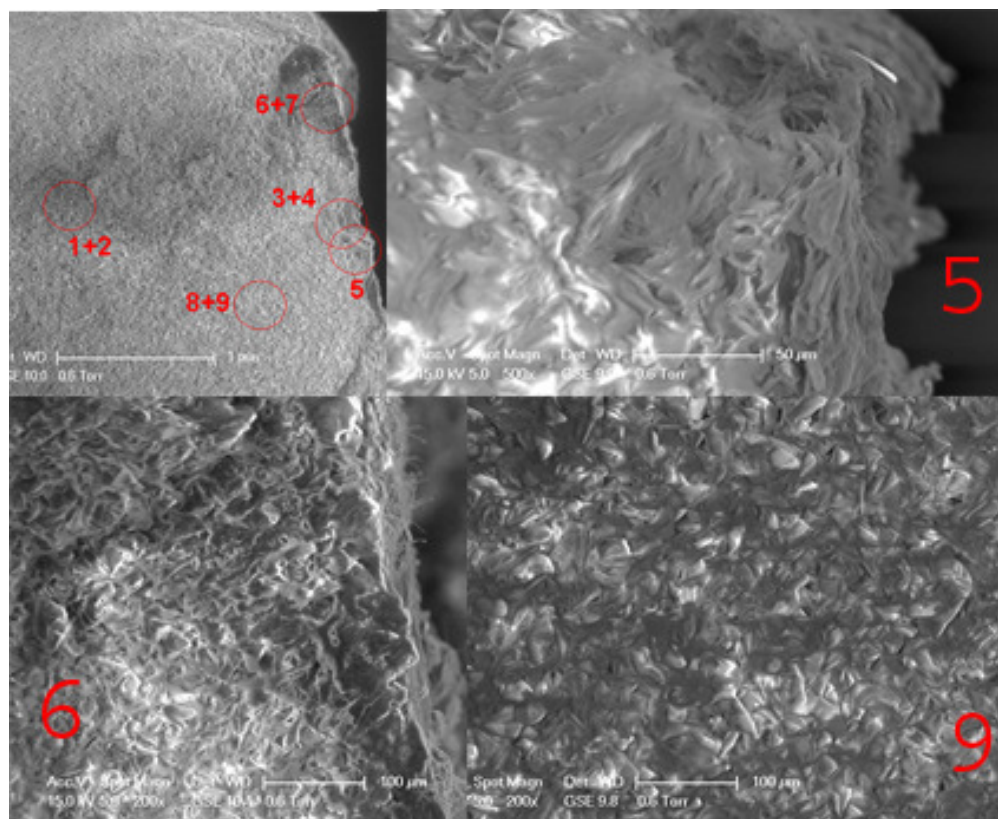
Vaxbitarna som legat i jorden visar spår efter marklevande djur som har ätit av vaxet.



Figur J: Neutralt vax som åldrats under tre till fyra månader. Den högra bilden är en förstoring av vänsterbildens kant. Vaxstrukturen finns kvar med destillerat vatten i små droppar inneslutna av vax



Figur K basiskt vax från hämningsförsöket. Första bilden visar en liten vaxbit och de tre andra är förstoringar. Större delen av vaxstrukturen finns kvar.



Figur L: Surt vax från hämningsförsöket. Vänstra översta bilden visar vaxbiten och de tre andra är förstoringar. Vaxet har börjat brytas ned men halten av syra är för låg för att brytas ned helt och bilda sprickor i vaxet.



*Raps är en viktig gröda i den södra svenska växtföljden.
Blommande rapsfält i stadium 53 med biodlare och bin.*